

*UNIVERSIDAD DE SALAMANCA*  
*DEPARTAMENTO DE MEDICINA*



*"ANÁLISIS DE POLIMORFISMOS DE GENES  
IMPLICADOS EN LA REGULACIÓN DEL ENDOTELIO Y  
LA INFLAMACIÓN EN PACIENTES CON  
INSUFICIENCIA CARDIACA Y SU RELACIÓN CON EL  
TIPO DE DISFUNCIÓN VENTRICULAR  
PREDOMINANTE"*

---

María José Ruiz Olgado

**DIRECTORES**

Dr. D. Rogelio González Sarmiento.

Catedrático de Medicina. Departamento de Medicina. Universidad de Salamanca.

Dr. D. Cándido Martín Luengo.

Catedrático de Cardiología. Departamento de Medicina. Universidad de Salamanca



PROF. DR. D. ROGELIO GONZÁLEZ SARMIENTO CATEDRÁTICO DE MEDICINA  
DE LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA,

PROF. DR. D. CÁNDIDO MARTÍN LUENGO CATEDRÁTICO DE MEDICINA DE LA  
UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

CERTIFICAN

Que el trabajo presente trabajo titulado “***ANÁLISIS DE POLIMORFISMOS DE GENES IMPLICADOS EN LA REGULACIÓN DEL ENDOTELIO Y LA INFLAMACIÓN EN PACIENTES CON INSUFICIENCIA CARDIACA Y SU RELACIÓN CON EL TIPO DE DISFUNCIÓN VENTRICULAR PREDOMINANTE***”, realizado por Dña. María José Ruiz Olgado bajo su dirección en el Departamento de Medicina, reúne, a su juicio, todos los requisitos suficientes para que sea presentado ante el tribunal correspondiente y optar al grado de Doctor por la Universidad de Salamanca.

Y para que así conste, y a los efectos oportunos, firman la presente en Salamanca a uno de septiembre de dos mil diez



*A A.Gadiaga*



## **AGRADECIMIENTOS**

**A mis tutores, por su singular paciencia y capacidad para fomentar el espíritu de investigación, que ha sido el germen promotor de este trabajo.**

**A mis padres y mis amigos, por su comprensión y cariño.**

**A todo el personal del departamento de Medicina, en especial a Nieves y a Estrella por su especial disposición para resolver problemas.**

**A Nacho por su inestimable ayuda en el análisis estadístico y sus sabias indicaciones.**





# ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	4
1. EPIDEMIOLOGÍA DE LA INSUFICIENCIA CARDIACA	
1.1 Prevalencia	5
1.2 Incidencia	7
1.3 Hospitalizaciones por Insuficiencia Cardiaca	9
1.4 Mortalidad	10
1.5 Causas predisponentes para el desarrollo de Insuficiencia Cardiaca	12
1.6 Epidemiología de la insuficiencia cardiaca con función sistólica preservada	13
1.7 Cumplimiento de objetivos en el tratamiento farmacológico de la insuficiencia cardiaca	14
2. FISIOPATOLOGÍA DE LA INSUFICIENCIA CARDIACA	
2.1 Función cardiaca normal	17
2.1.1 El ciclo cardíaco	17
2.1.2 Bases celulares de la contracción cardiaca	19
2.2 Función cardiaca anormal: Insuficiencia Cardiaca	22
2.2.1 El evento inicial	22
2.2.2 Mecanismos de compensación de la insuficiencia cardiaca	22
2.2.3 Progresión al fallo cardíaco	24
2.2.4 Remodelado de cavidades en la insuficiencia cardiaca	29
2.3 Disfunción endotelial en la insuficiencia cardiaca	30
2.3.1 La endotelina-1 en la fisiopatología de la insuficiencia cardiaca	32
2.3.2 El óxido nítrico en la fisiopatología de la insuficiencia cardiaca	35
2.3.3 Relación entre la endotelina-1 y el óxido nítrico	37
2.4 La inflamación en la insuficiencia cardiaca	38
2.4.1 Citoquinas en la insuficiencia cardiaca	39
2.4.2 Interleucina-6 en la insuficiencia cardiaca	40
2.4.3 Ciclooxygenasa en la insuficiencia cardiaca	41

3. GENÉTICA DE LA INSUFICIENCIA CARDIACA	42
3.1 Polimorfismos genéticos en la insuficiencia cardiaca	43
3.2 Polimorfismos de genes implicados en el sistema endotelial e inflamación en la insuficiencia cardiaca	46
3.2.1 Polimorfismos del gen de la sintasa del óxido nítrico (NOS3)	46
3.2.2 Polimorfismos del gen de la endotelina-1 (END-1)	48
3.2.3 Polimorfismos de gen de la ciclooxigenasa-2 (PTGS2)	49
3.2.4 Polimorfismos del gen de la Interleucina-6 (IL-6)	50
HIPOTESIS	52
OBJETIVOS	53
1. Primario	53
2. Secundarios	53
MATERIAL Y MÉTODOS	
1. POBLACIÓN A ESTUDIO	55
1.1 Selección de pacientes	55
1.2 Grupos de estudio	56
2. DISEÑO DEL ESTUDIO	57
3. MÉTODOS	58
3.1 Extracción del ADN	58
3.2 Amplificación de fragmentos del ADN mediante PCR	59
3.3 Discriminación alélica mediante digestión con nucleasas de restricción	59
3.4 Discriminación alélica mediante PCR con sondas Taqman	61
3.5 Análisis del polimorfismo Glu298Asp del gen NOS3	65
3.6 Análisis del polimorfismo Lys198Asn del gen ET-1	66
3.7 Análisis del polimorfismo 8473C>T del gen PTGS2	67
3.8 Análisis del polimorfismo -174G>C del gen IL-6	68

4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	69
RESULTADOS	
1. Test de Equilibrio de Hardy-Weinberg	69
2. Descripción de la población en estudio	70
3. Análisis del polimorfismo Glu298Asp del gen NOS3	
Análisis por genotipos	79
Análisis por alelos	83
4. Análisis del polimorfismo Lys198Asn del gen EDN-1	
Análisis por genotipo	83
Análisis por alelos	87
5. Análisis del polimorfismo 8473C>T del gen PTGS2	
Análisis por genotipos	89
Análisis por alelos	93
6. Análisis del polimorfismo -174G>C del gen IL-6	
Análisis por genotipos	93
Análisis por alelos	97
7. Análisis multivariante	99
DISCUSIÓN	102
LIMITACIONES DEL ESTUDIO	112
CONCLUSIONES	113
BIBLIOGRAFÍA	115
ANEXO I: Genotipos y características clínicas	128

## INTRODUCCIÓN

En el año 2003 el Dr. Eugene Braunwald declaraba: “ Hemos ganado muchas batallas contra las cardiopatías congénitas, enfermedades valvulares, endocarditis infecciosa, hipertensión e infarto de miocardio, pero la insuficiencia cardiaca congestiva, me parece, es el último gran campo de batalla”<sup>(75)</sup>.

La incidencia y prevalencia de la insuficiencia cardiaca crónica continúan en aumento en los países occidentales, constituyendo una de las epidemias del siglo XXI. En su desarrollo han contribuido factores como el aumento en la expectativa de vida de la población, la mejor detección y control de factores de riesgo para esta patología y la disminución en la mortalidad de la cardiopatía isquémica y otras enfermedades cardiovasculares, incluyendo la de la propia insuficiencia cardiaca. Como consecuencia de todo ello, la insuficiencia cardiaca constituye una de las principales causas de reingresos hospitalarios y, por tanto, una de las más importantes fuentes de consumo de recursos sanitarios. Consecuentemente, esta enfermedad se ha convertido en uno de los focos principales de atención entre las enfermedades cardiovasculares<sup>(1-11)</sup>.

La insuficiencia cardiaca es un síndrome que se caracteriza por la ineficacia del corazón para ejercer su función de bomba. Desde el momento del diagnóstico, el pronóstico de esta enfermedad es sombrío, no sólo por la cantidad de recursos económicos que consume, sino también porque conlleva un deterioro importante de la calidad de vida de los pacientes afectados<sup>(1;3-6;9;11;14-16)</sup>.

## **1.- EPIDEMIOLOGÍA DE LA INSUFICIENCIA CARDIACA**

Las cifras epidemiológicas comunicadas en los estudios han resultado muy dispares en base a las diferencias entre las poblaciones estudiadas y los criterios utilizados en el diagnóstico de insuficiencia cardiaca.

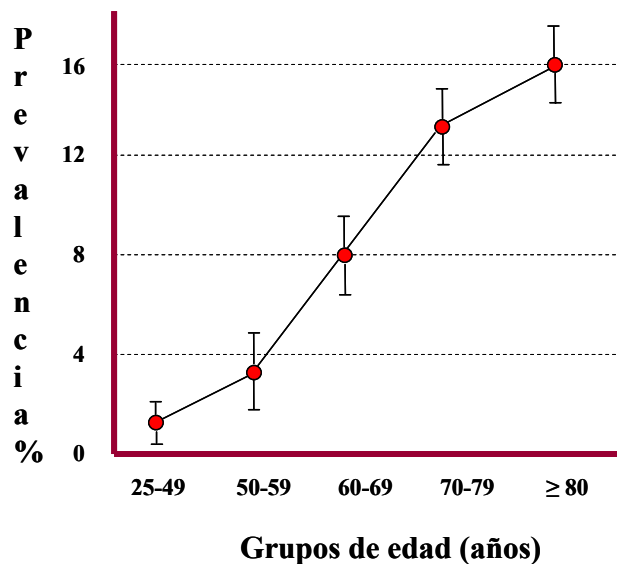
### **1.1 Prevalencia**

La prevalencia mide el número de casos de la enfermedad en la población en un momento determinado a partir de los resultados obtenidos en estudios transversales. El problema de estos estudios radica en que pueden infravalorar la magnitud del problema, porque no todos los pacientes acuden al médico, porque los que lo hacen son los más graves, o porque se circunscriben a pequeñas poblaciones desde donde se extrapolan los resultados, con el peligro que suponen las diferencias regionales, las características basales de la población ( edad, antecedentes..) etc <sup>(3-14)</sup> .

En España se ha realizado recientemente un estudio de prevalencia de insuficiencia cardiaca, el estudio PRICE<sup>(50)</sup>. Según los resultados de este estudio, la prevalencia de la insuficiencia cardiaca en España es elevada, en torno al 6,8% de la población de 45 o más años. Esta prevalencia es similar en varones y mujeres, y aumenta de forma clara y significativa con la edad, de tal forma que por encima de los 75 años es del 16%, tanto en varones como en mujeres. La prevalencia es del 8% en el grupo de edad entre los 65 y los 74 años, del 5,5% entre los 55 y los 64 años y más baja, del 1,3% entre los 45 y 54 años. La cifra de prevalencia general (6,8%) es superior, aunque no con grandes diferencias a la encontrada por Cortina en Asturias ocho años antes<sup>(17)</sup> que fue del 5%. En todo caso, estas cifras representan un notable aumento de la prevalencia de insuficiencia cardiaca en los países occidentales, si las comparamos con datos publicados en la última década. Los datos

del estudio de Framingham han mostrado que, en la población general mayor de 40 años, aproximadamente el 1% presenta insuficiencia cardiaca y otro 2% tiene clínica compatible con insuficiencia cardiaca, aunque ésta pueda descartarse después de un examen clínico y ser consecuencia de un proceso no cardiaco, como respiratorio o renal. La prevalencia de la insuficiencia cardiaca se dobla con cada década de edad y se sitúa alrededor del 10% en sujetos mayores de 70 años<sup>(3-6;9;11;14-15;17;50)</sup>. De hecho, la mayoría de los pacientes atendidos en las consultas médicas por presentar insuficiencia cardiaca son ancianos. Esta situación es esperable no sólo por la mayor frecuencia del problema sino porque, en edades avanzadas, la enfermedad es más sintomática que entre los jóvenes.

Recientemente se ha publicado un estudio en Portugal<sup>(20)</sup>, en el que se analizó la prevalencia de insuficiencia cardiaca en 500 centros de atención primaria adecuadamente randomizados a lo largo de todo el territorio nacional. La prevalencia global de insuficiencia cardiaca de cualquier etiología obtenida en este estudio fue del 4'36% (*Figura 1*).



*Figura.1. Prevalencia ajustada por edad estimada para todos los tipos de IC en la población del estudio EPICA<sup>(20)</sup>.*

La prevalencia de la insuficiencia cardiaca está en continuo aumento debido al mayor envejecimiento de la población y a la mejoría en la supervivencia de los enfermos con otra patología cardiovascular que progresa hacia la insuficiencia cardiaca como punto final de su evolución (particularmente la cardiopatía isquémica y la hipertensión arterial). Además, la disponibilidad de nuevas terapias farmacológicas e instrumentales en los últimos años se ha traducido en una mejoría de la supervivencia<sup>(14;21-22)</sup>.

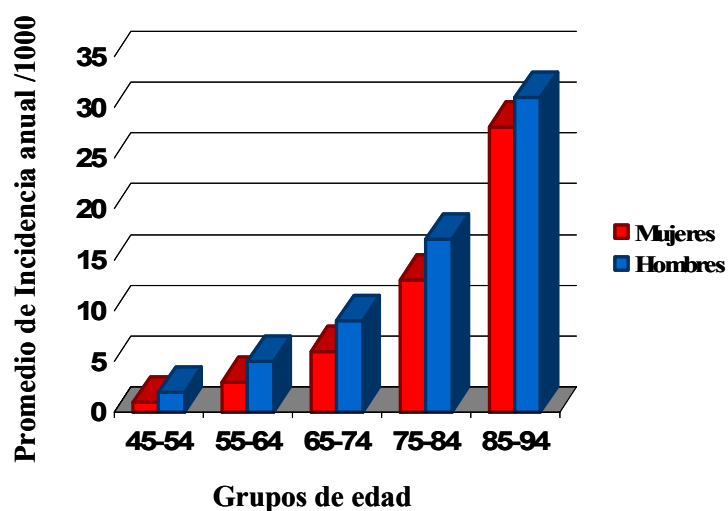
Datos provenientes de estudios europeos confirman el aumento de prevalencia de la insuficiencia cardiaca en los últimos años e incluso anticipan un mayor incremento para los próximos 10-15 años. En Escocia, se estima que la prevalencia de la insuficiencia cardiaca aumentará con respecto al año 2000 un 31% en varones y un 17% en mujeres en el 2020<sup>(50)</sup>.

## **1.2 Incidencia**

La incidencia determina el número de casos nuevos de una enfermedad durante un determinado periodo de tiempo y facilita información sobre los factores de riesgo causales de la misma. Para ello es necesario hacer un seguimiento en una población sana para esa enfermedad durante un período de tiempo determinado.

Los datos de la incidencia de la insuficiencia cardiaca de los que disponemos provienen de los resultados de estudios poblacionales (Framingham, Rochester y Michigan – E.E.U.U. - , Finlandia y Reino Unido) <sup>(16-31)</sup>. Según estos estudios, la incidencia de insuficiencia cardiaca se ha cifrado en el 0,1-0,2%; estimándose que por cada década de la vida se dobla la incidencia hasta alcanzar el 3 % en pacientes mayores de 85 años, que es dos veces superior en pacientes con hipertensión arterial que en normotensos y cinco veces superior en pacientes que han sufrido un infarto de miocardio en comparación con los que

no lo han tenido (*Figura 2*). El riesgo de por vida de padecer ICC en el estudio Framingham fue estimado en 1/8.



*Figura 2. Incidencia de IC por año y sexo tras 36 años de seguimiento. Estudio Framingham <sup>(28)</sup>.*

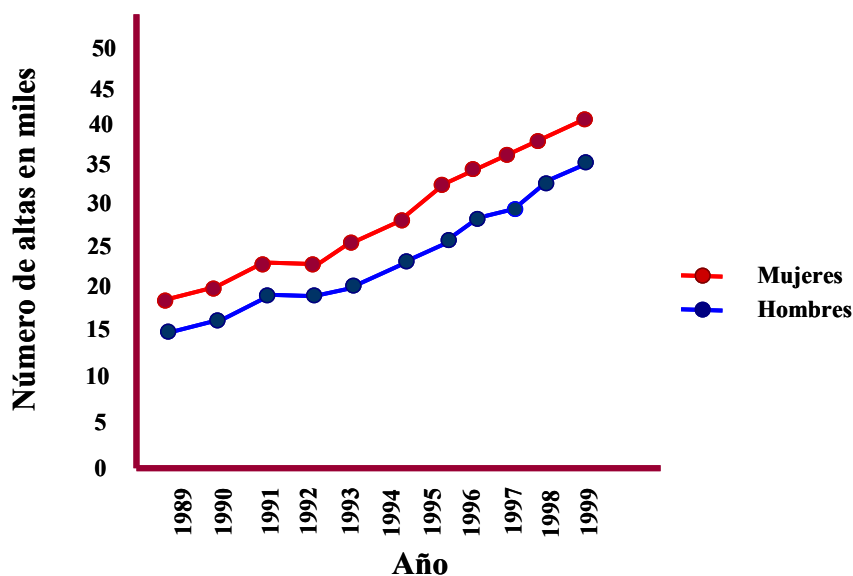
Diversos estudios han demostrado que la incidencia de la insuficiencia cardiaca se ha mantenido estable en los últimos años, y en los dos sexos. Esto se explica por un aumento de la obesidad y de la diabetes mellitus tipo 2 en la población general, así como por una mayor supervivencia de la cardiopatía isquémica y, por tanto, una esperanza de vida más larga, lo que supone un gran riesgo para la progresión hasta insuficiencia cardiaca<sup>(32,33)</sup>.



### **1.3 Hospitalizaciones por insuficiencia cardiaca**

En España se producen unos 80.000 ingresos hospitalarios/año por insuficiencia cardiaca. Al igual que ocurre en otros países desarrollados, la insuficiencia cardiaca es la primera causa de hospitalización en mayores de 65 años, por delante de la enfermedad coronaria y del ictus, resultando en aproximadamente el 5% del total de hospitalizaciones<sup>(14;17;34)</sup>.

El número de ingresos hospitalarios ha aumentado considerablemente en los últimos años, siendo más frecuente en mujeres y es previsible que siga haciéndolo en un futuro inmediato debido al progresivo envejecimiento de la población<sup>(34;-36)</sup> (*Figura 3*).



*Figura 3. Número de altas por Insuficiencia Cardiaca en España 1989-1999.* <sup>(34)</sup>

Los últimos datos registrados en España corresponden al año 2007. Las estancias hospitalarias por IC en este año suponen el 2,6% de las estancias totales teniendo en cuenta a toda la población, pero si reducimos las cifras a la población mayor de 65 años, el porcentaje se dobla, siendo la IC la causa del 4,6% de las estancias hospitalarias en esta franja de edad<sup>(14)</sup>.

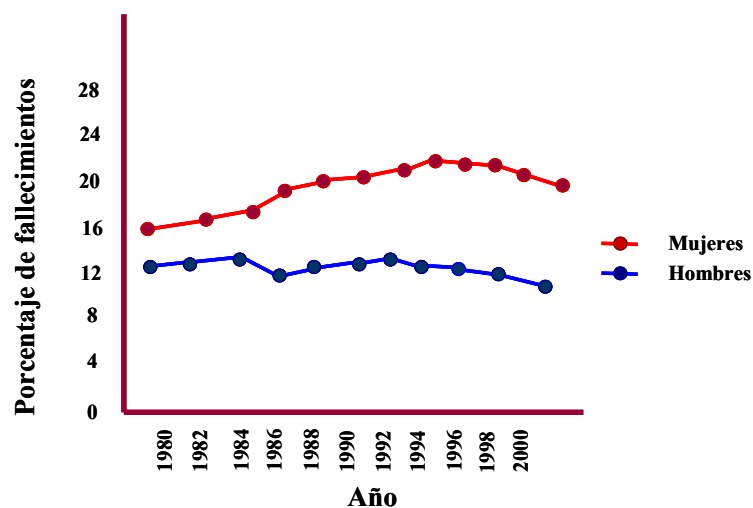
#### **1.4 Mortalidad**

Según el estudio de Framingham,<sup>(16;26)</sup> la supervivencia de la insuficiencia cardiaca es del 50% a los 5 años del diagnóstico, por lo que se asemeja a la de algunos cánceres muy agresivos. A pesar de que existen pocos estudios epidemiológicos recientes, se dispone de ciertas evidencias a través de estudios de otro tipo, de mejoría en la mortalidad de la insuficiencia cardiaca, que coinciden con la introducción de ciertos grupos de fármacos como son los inhibidores del enzima de conversión de la angiotensina y los betabloqueantes<sup>(37;38;)</sup>. A pesar de ello, la mortalidad no ha disminuido tanto como se pensó porque, por un lado, una alta proporción del pacientes con insuficiencia cardiaca presenta una función sistólica conservada y, por otro, muchos de estos pacientes son ancianos y mujeres con importante comorbilidad asociada. Además, el tratamiento clínico en pacientes con insuficiencia cardiaca y disfunción sistólica no es óptimo en un gran porcentaje de casos<sup>(39-42;48)</sup>.

La mortalidad por insuficiencia cardiaca se calcula a partir de los datos de los certificados de defunción y junto con las hospitalizaciones son el indicador del que se dispone a nivel nacional, el cual no se ajusta a la realidad, dadas las normas de codificación que priorizan la asignación de causa de muerte a la cardiopatía isquémica. Aún así, en

España la insuficiencia cardiaca es la tercera causa de muerte cardiovascular después de la cardiopatía isquémica y la enfermedad cerebrovascular<sup>(14)</sup>.

La información más recientemente publicada de la que se dispone sobre la mortalidad en España por insuficiencia cardiaca data del año 2007. En este año, del total de muertes (385361) el 5% del total fue por insuficiencia cardiaca (20092). En referencia a la evolución de los datos de años consecutivos se disponen de comparativas hasta el año 2000 (*Figura 4*).



*Figura.4 Mortalidad por Insuficiencia Cardiaca en España 1980-2000<sup>(14)</sup>.*

Se ha observado que la mortalidad debida a insuficiencia cardiaca aumenta geográficamente del norte hasta el sur y en las regiones mediterráneas, mostrando un patrón de distribución similar al de la cardiopatía isquémica y la enfermedad cerebrovascular<sup>(9)</sup>.

Se ha producido un descenso notable y progresivo en las tasas de mortalidad en ambos sexos por insuficiencia cardiaca desde el año 1977, estabilizándose para personas mayores de 85 años. A pesar de este descenso, la mortalidad total ha aumentado como consecuencia del envejecimiento progresivo de la población, sobre todo en el sexo femenino, en el que la importancia de la insuficiencia cardiaca entre el grupo de enfermedades cardiovasculares es cada vez mayor<sup>(9)</sup>.

### **1.5 Causas predisponentes para el desarrollo de insuficiencia cardiaca**

En la década de los 70 la hipertensión arterial (HTA) y la enfermedad coronaria, en particular el infarto agudo de miocardio, fueron las causas primarias de la IC tanto en Estados Unidos como en Europa. Sin embargo, la enfermedad coronaria y la diabetes mellitus han incrementado su grado de responsabilidad, mientras que la HTA y las enfermedades valvulares han disminuido su peso gracias a las mejoras en la detección y tratamiento. Durante más de cuatro décadas de observación en el Estudio Framingahm, la prevalencia de la enfermedad coronaria como causa de IC ha aumentado un 41% en varones y un 25% en mujeres; la prevalencia de diabetes como causa contribuyente al desarrollo de IC ha aumentado más del 20% por década<sup>(16;26)</sup>.

#### **Cardiomiopatía isquémica**

La cardiomiopatía isquémica es la causa más importante de IC con disfunción sistólica en los países occidentales. Se diagnostica en pacientes con IC que han tenido un infarto de miocardio o enfermedad coronaria severa. Pacientes con enfermedad de un único vaso que no presentan evidencia de infarto de miocardio o que han sido revascularizados tienen un pronóstico similar a la población sin cardiomiopatía isquémica<sup>(51)</sup>.

## **Hipertensión Arterial**

La presencia de hipertensión arterial incrementa el riesgo de IC en todos los rangos de edad. Datos del Estudio Framingahm indican que en mayores de 40 años la presencia de tensión arterial superior o igual a 160/100 mmHg incrementa el doble el riesgo de padecer IC<sup>(16;26)</sup>. El riesgo de desarrollar IC aumenta con el grado de hipertensión. La media de tensión arterial en pacientes hipertensos candidatos para el desarrollo de IC en el estudio Framingahm fue 150/90 mmHg<sup>(16;26)</sup>.

Por otra parte, la hipertensión arterial tiene un fuerte impacto en el remodelado ventricular tras un infarto de miocardio, y aumenta el riesgo de padecer IC en estos pacientes.

En lo referente a España, según datos recientes la HTA y la cardiopatía isquémica fueron la causa, aislada o en combinación, de más del 80%<sup>(48;50)</sup>. Había numerosas enfermedades asociadas: HTA en un 76% de los casos, fibrilación auricular en un 46% y diabetes en un 38%<sup>(48;50)</sup>. Otros factores de riesgo cardiovascular fueron obesidad (64%), hipercolesterolemia (50%), tabaquismo (30%) e hipertrigliceridemia (24%). El filtrado glomerular medio fue de  $72,1 \pm 84,2$ <sup>(48;50)</sup>.

### **1.6 Epidemiología en la Insuficiencia Cardíaca con Función Sistólica Preservada**

Según diferentes estudios, la disfunción sistólica se ha estimado en un rango de fracción de eyección comprendido entre el 50% y el 30%. Según este criterio, aproximadamente el 50% de los casos de insuficiencia cardíaca tiene una función sistólica normal o ligeramente disminuida<sup>(19;25;27)</sup>.

En el último estudio realizado en el ámbito nacional (Estudio PRICE), el 48% de los casos de insuficiencia cardiaca correspondían a insuficiencia cardiaca con función sistólica conservada<sup>(50)</sup>.

La epidemiología y la historia natural de la insuficiencia cardiaca con función sistólica preservada son en gran parte desconocidas debido a las dificultades diagnósticas y epidemiológicas para poder ponerlas de manifiesto. Estos pacientes se han excluido de la mayoría de los grandes ensayos clínicos, por lo que sus pautas de tratamiento cuentan con menos evidencias científicas que las de sus homólogos en el grupo de insuficiencia cardiaca con fracción de eyección disminuida.

Hasta hace poco se creía que el pronóstico de la insuficiencia cardiaca con función sistólica preservada era mejor que el de la insuficiencia cardiaca con disfunción sistólica, especialmente en ancianos. Recientemente se ha demostrado que el pronóstico a largo plazo es similar en ambos grupos de insuficiencia cardiaca, así como las tasas de hospitalización recurrentes y los costes de asistencia<sup>(16;27;46;47)</sup>.

La insuficiencia cardiaca con función sistólica preservada es, en comparación con la insuficiencia cardiaca por disfunción sistólica, más frecuente en mujeres y ancianos, y suele asociarse a hipertensión arterial de larga evolución<sup>(16;27;46;47)</sup>.

### **1.7 Cumplimiento de objetivos en el tratamiento farmacológico de la Insuficiencia Cardiaca**

La insuficiencia cardiaca es una enfermedad que, como ha quedado ya de manifiesto, implica una elevada mortalidad; por tanto, los diferentes tratamientos debe ir encaminados a reducir, fundamentalmente la mortalidad, pero sin obviar la mejora de los síntomas, y de la calidad de vida de los pacientes. En la actualidad disponemos de un abanico amplio de tratamientos, siendo varios los fármacos que han demostrado su eficacia: betabloqueantes,

inhibidores del enzima de conversión de la angiotensina (IECAs), inhibidores de la aldosterona, antagonistas de los receptores de angiotensina II (ARA II) y en casos concretos, el uso de hidralazina combinada con nitratos. La eficacia en reducir la mortalidad utilizando estos fármacos según los diversos ensayos clínicos varía entre el 15 y el 35%. A pesar de estas alentadoras cifras, los registros europeos sobre el tratamiento de los pacientes con insuficiencia cardiaca indican que pocos son los países con una tasa de utilización adecuada de los mismos. En España, según datos del 2003, los pacientes con insuficiencia cardiaca que estaban tratados con IECAs no alcanzaban el 55%, no superando el 15% los pacientes tratados con betabloqueantes <sup>(49)</sup> (*Figuras 5 y 6*). Esta discordancia entre la evidencia científica y la práctica clínica real podría tener su base en las importantes diferencias entre los pacientes reales y los que son incluidos en los ensayos clínicos. Así, los pacientes reales presentan una edad más avanzada, una mayor proporción de mujeres y por supuesto, una comorbilidad más importante.

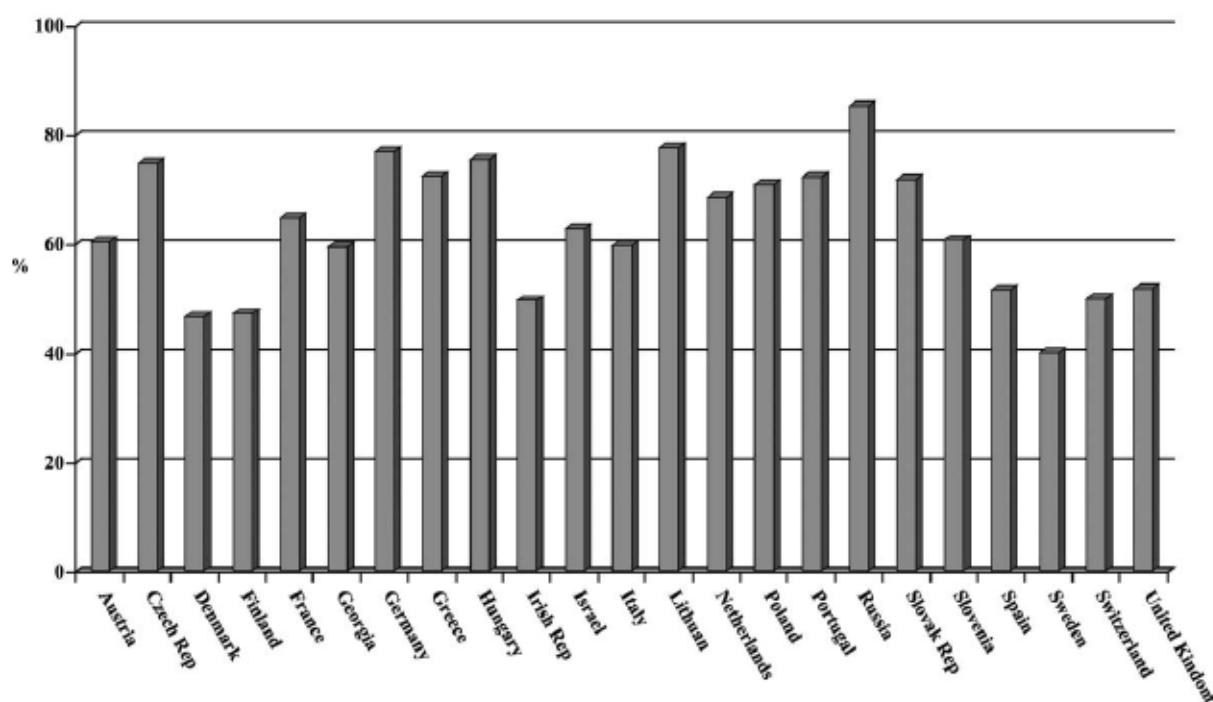


Figura 5. Utilización de IECAs en IC en países europeos año 2003<sup>(49)</sup>

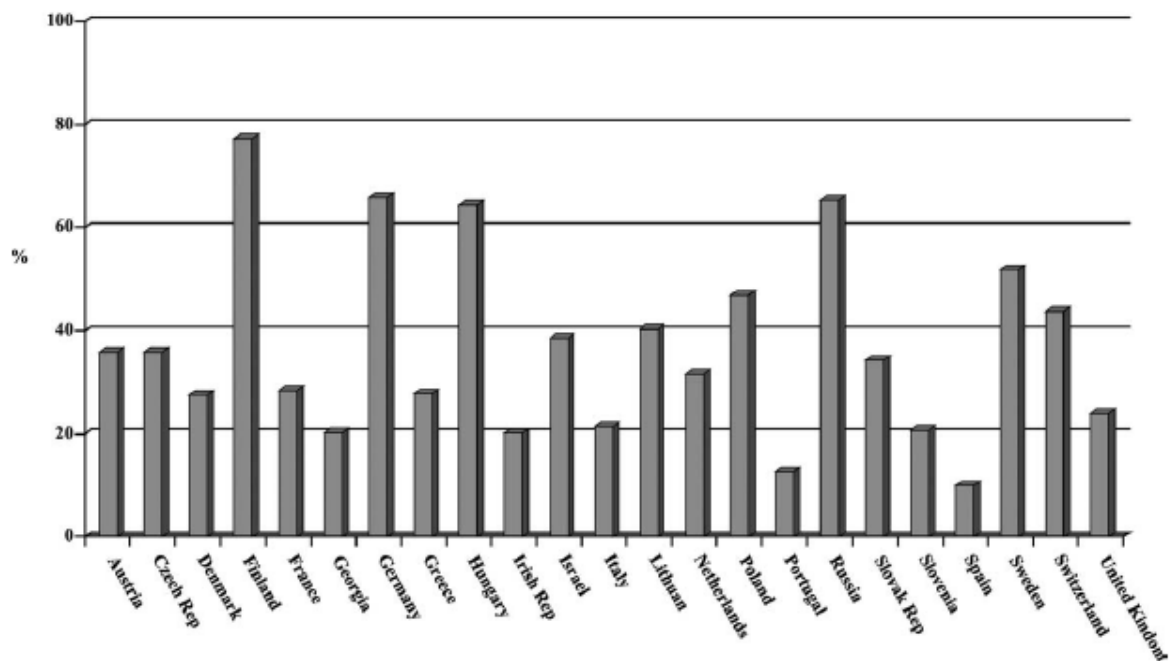


Figura 6. Utilización de betabloqueantes en IC en países europeos año 2003<sup>(49)</sup>

En España, en el estudio EPISERVE sobre la insuficiencia cardiaca tratada de manera ambulatoria, existían notables diferencias en la utilización de betabloqueantes y IECAs según el grupo de especialistas, siendo claramente más utilizados por los cardiólogos que por los médicos de atención primaria o internistas<sup>(48)</sup>.



## **2.- FISIOPATOLOGÍA DE LA INSUFICIENCIA CARDIACA**

### **2.1 FUNCION CARDIACA NORMAL**

La insuficiencia cardíaca se caracteriza por la incapacidad del corazón para bombear la cantidad de sangre necesaria para abastecer el metabolismo de los tejidos, o bien para hacerlo únicamente elevando las presiones de llenado<sup>(52)</sup>. La comprensión de determinados principios fisiológicos relacionados con el corazón y la función circulatoria es fundamental y los describiremos a continuación.

#### **2.1.1 El ciclo cardíaco**

Supone la traducción mecánica de los eventos moleculares descritos más adelante. Nos da información acerca de los eventos temporales que ocurren en el corazón. A efectos prácticos, los tres sucesos básicos del ciclo cardíaco son: contracción, relajación y llenado ventriculares. El primero se corresponde la sístole y los dos segundos constituyen la diástole<sup>(52)</sup> (*Figura 7*).

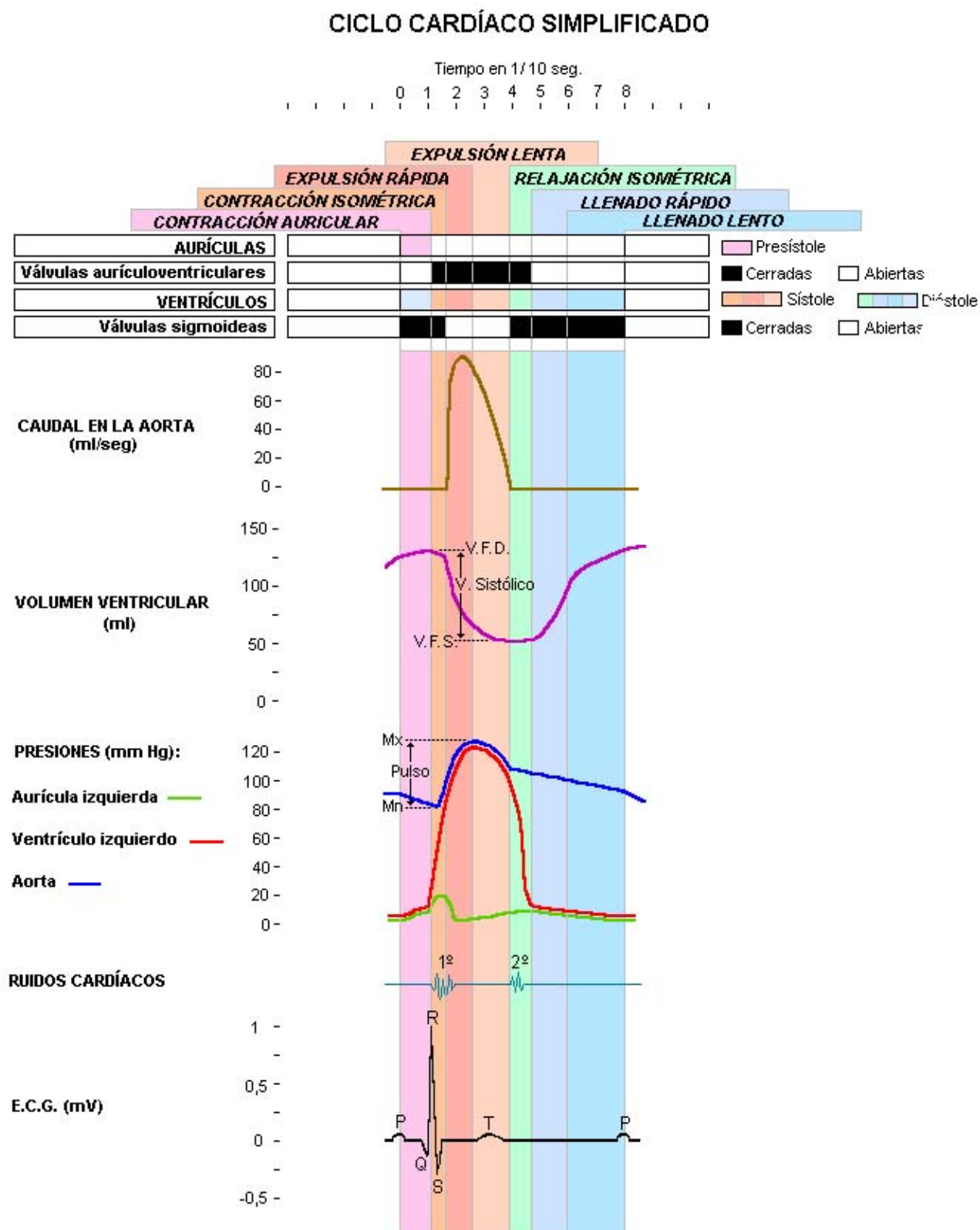


Figura 7. Ciclo Cardíaco

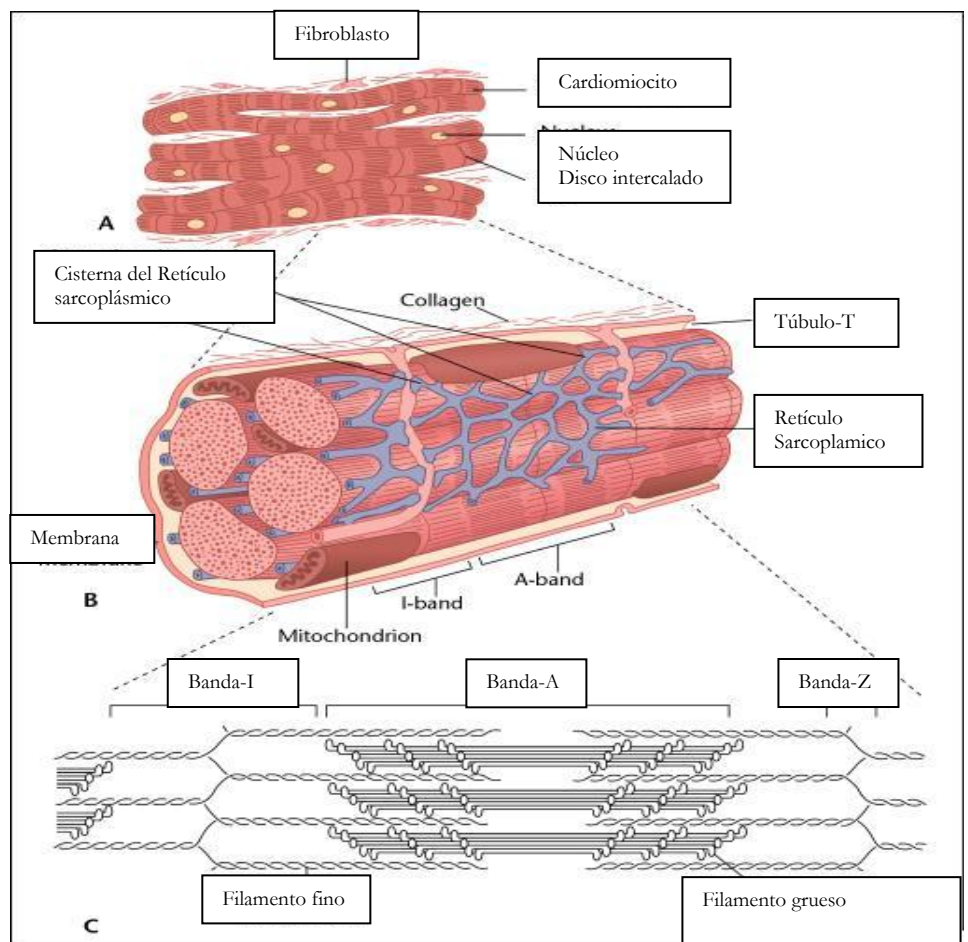
### 2.1.2. Bases celulares de la contracción cardíaca

#### Ultraestructura de las células contráctiles

Las paredes musculares del corazón humano están compuestas por una red ramificada de cardiomiocitos (células musculares especializadas) que constituyen el 75% del volumen total del miocardio. A su vez, el 50% de los cardiomiocitos lo ocupan las miofibrillas encargadas de la contracción y entre un cuarto y un tercio, las mitocondrias. Los miocitos se agrupan en paquetes que están rodeados y sostenidos por fibras colágenas; a este conjunto se les denomina miofibras<sup>(52)</sup>.

Cada una de estas células musculares está ocupada de forma dominante por haces de miofilamentos que, a su vez, se organizan en una serie de subunidades que se repiten en series denominadas sarcómeras. Estos patrones similares a bandas son los responsables de la naturaleza estriada del músculo cardíaco cuando es observado al microscopio óptico (Bandas oscuras A y bandas claras I).

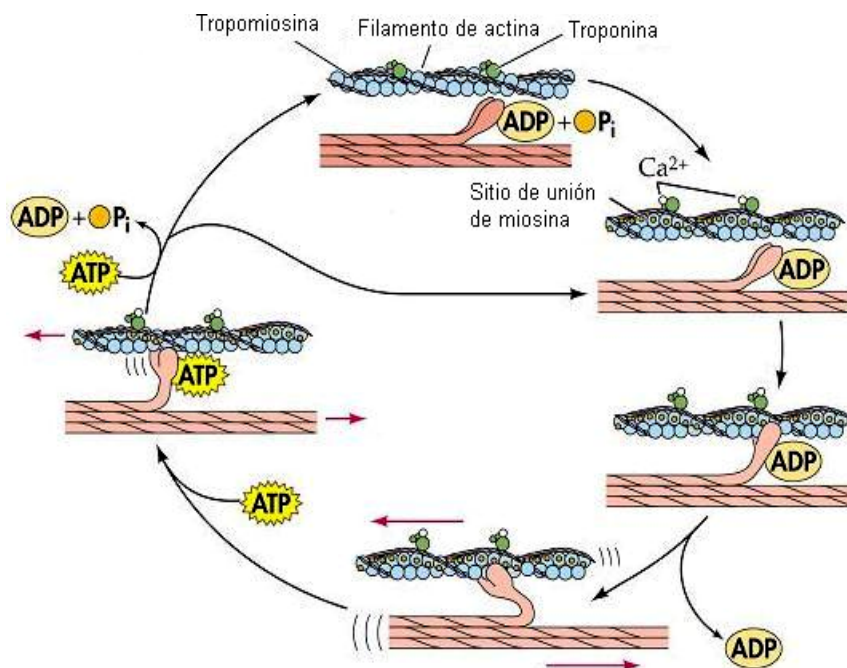
*Figura 8. Fibras miocárdicas (arriba), ultraestructura del miocito y la sarcómera (centro) y proteínas contráctiles (abajo).*



En las Bandas oscuras A existen filamentos finos y filamentos gruesos, mientras que en las Bandas claras I sólo hay filamentos finos. En el centro de cada banda I hay una línea oscura (Z) punto de unión entre los filamentos finos de una sarcómera con los adyacentes. Cada sarcómera está limitada por líneas Z. En el centro de cada banda oscura existe una línea M donde sólo hay filamentos gruesos y que constituye la mitad del sarcómero (*Figura 8*).

### Proteínas contráctiles y ciclo contráctil

Los filamentos gruesos se componen fundamentalmente de miosina, proteína de alto peso molecular que presenta una parte alargada y otra globular con actividad ATPasa (cabezas de miosina). Los filamentos finos se componen de una doble hélice de actina y de otros dos tipos de proteínas, la tropomiosina y las troponinas (T, C e I). Durante la contracción cardíaca no se produce variación en la longitud de los filamentos sino que todo se fundamenta en las distintas interacciones entre los filamentos de actina y las cabezas de miosina (*Figura 9*).



*Figura 9. Ciclo de Contracción*

## Acoplamiento excitación-contracción

Aunque el mecanismo que origina este proceso no se conoce con exactitud, actualmente se sabe que el vínculo clave que permite el acoplamiento entre la excitación eléctrica y la contracción mecánica es el ión calcio (*Figura 10*).

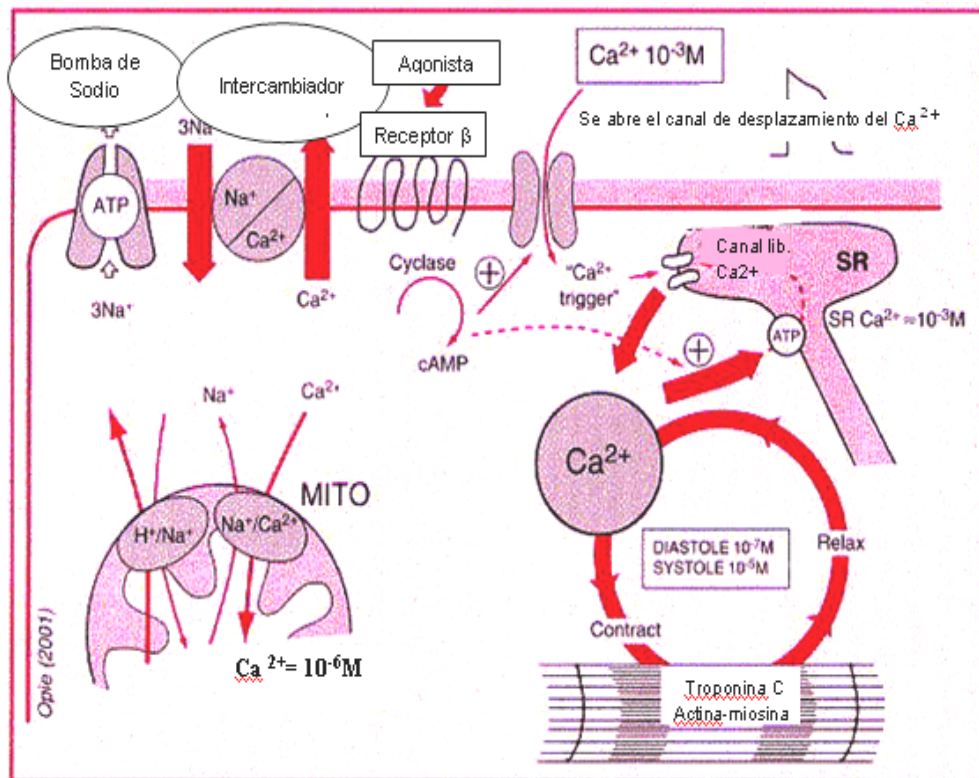


Figura 10. El ión Calcio en el acoplamiento excitación-contracción<sup>(53)</sup>

Los iones calcio juegan un papel esencial en la vinculación del control neurohumoral externo del corazón con el estímulo del proceso contráctil. Su interacción con la troponina C es indispensable para la formación de los puentes cruzados y, según alguna hipótesis<sup>(53)</sup>, la concentración de calcio actuaría como mecanismo regulador del número total de puentes cruzados. Otras teorías apuntan a una activación de las células adyacentes activando nuevos puentes cruzados aún sin el aumento en el grado de unión del calcio a la troponina C de éstos<sup>(52)</sup>.

## **2.2 FUNCIÓN CARDIACA ANORMAL: Insuficiencia Cardíaca**

### **2.2.1. El suceso inicial**

La afectación del corazón que finalmente desencadenará el síndrome clínico de la IC comienza siempre con lo que se denomina “suceso inicial”. Este acontecimiento es muchas veces difícil de reconocer ya que puede estar relacionado con la presencia de hipertensión arterial no controlada y sin clínica reconocible, valvulopatías no estudiadas o la asociación a ciertas mutaciones o alteraciones transmitidas de forma genética. En otras ocasiones, el suceso inicial es fácilmente reconocible, como puede ocurrir tras un síndrome coronario agudo tipo infarto agudo extenso con deterioro severo de la función sistólica.

El tipo de respuesta primaria del corazón depende de la naturaleza del evento inicial: así en el caso de la enfermedad coronaria el organismo se debe adaptar con rapidez a la pérdida de una porción importante de la masa ventricular, lo cual desencadena una activación precoz y mantenida de los sistemas neurohormonales y un cambio rápido de la estructura del corazón. Muy diferente es la situación que ocurre en presencia de la hipertensión arterial no controlada y mantenida, en la que el problema inicial está en relación con la generación de una respuesta ante una sobrecarga crónica de presión, de volumen o ambas. No obstante, los estadios finales pueden ser indistinguibles, una vez que el deterioro de la función sistólica y la dilatación ventricular se han establecido<sup>(52)</sup>.

### **2.2.2. Mecanismos de compensación en la IC**

La alteración inicial de la que antes hemos hablado se mantiene en muchas ocasiones de forma asintomática. De hecho, la prevalencia de disfunción ventricular asintomática en la población parece ser al menos tan frecuente como la de pacientes con síndrome clínico. La disminución inicial de la capacidad para adaptar el gasto cardíaco al ejercicio conlleva la

generación de una respuesta estereotipada en la que el organismo intenta mantener la presión de perfusión sobre los órganos diana, pero a la vez se produce una reacción sobre el órgano dañando (el corazón). Las respuestas neurohormonales que se activan tienen al corazón como un órgano diana más, de manera que los cambios que inducen para mantener la homeostasis del organismo se producen de forma conjunta. Esta situación de relativo “bajo gasto” produce una disminución de la presión de perfusión tisular que es detectada por los órganos barorreceptores y el aparato yuxtaglomerular. El resultado neto es un aumento de la producción de renina que genera un incremento de los niveles de angiotensina II y de aldosterona.

Por otra parte, se aumenta la descarga del sistema simpático (además estos dos sistemas se retroalimentan positivamente, de manera que la angiotensina II promueve la secreción de catecolaminas y viceversa). Otras neurohormonas que se incrementan en fases iniciales son la endotelina y la vasopresina. En general, y desde un punto de vista compensador, todas estas sustancias producen un aumento de las resistencias periféricas en un intento de mantener la presión de perfusión y la capacidad del riñón para sustraer la mayor cantidad de sodio y agua del filtrado glomerular, con lo que se pretende asegurar la volemia suficiente para mantener una precarga adecuada.

Las catecolaminas tienen como uno de sus órganos diana más importantes al corazón, sobre el que generan un aumento de la contractilidad, de la frecuencia y de la capacidad para relajarse con mayor rapidez, con lo que intentan mantener un gasto adecuado (se aumenta el volumen latido por un incremento de la contractilidad y a esto se le suma un aumento de la frecuencia cardíaca). Sin embargo, el problema de esta situación es su tendencia a la cronicidad y, con ello, al desarrollo de los efectos negativos inherentes a la sobreactivación de los sistemas neurohormonales. Algunos sistemas como las prostaglandinas o los péptidos natriuréticos actúan como reguladores inversos, ya que sus

acciones son contrarias a las mencionadas previamente pues producen vasodilatación y natriuresis. Su producción en etapas iniciales puede ayudar a mantener un estado silente de la enfermedad durante un tiempo variable.

A nivel del corazón la pérdida de la función normal intenta compensarse mediante una adaptación que sigue la ley de Frank-Starling. Se produce dilatación de la cavidad, con lo que aumenta la precarga y con ello el volumen latido; no obstante, esta dilatación condiciona un aumento de la tensión parietal y del consumo de oxígeno; para evitarlo, se produce hipertrofia compensadora que, al aumentar el grosor de la pared, restablece la tensión de la misma. De nuevo, el problema se produce cuando se mantienen los estímulos que condicionan estas respuestas, ya que a la larga se convierten en deletéreos. El cambio en la forma y el tamaño del ventrículo es lo que se denomina remodelado cardíaco<sup>(52;54)</sup>.

### **2.2.3 Progresión del fallo cardíaco**

El mantenimiento de niveles elevados de ciertos péptidos y neurohormonas induce múltiples efectos a nivel del sistema cardiovascular.

#### **Activación del sistema neurovegetativo**

A nivel cardíaco, los niveles elevados de catecolaminas conducen a un estado denominado de *desensibilización adrenérgica*, debido a una disminución del número de receptores adrenérgicos beta 1, un desacoplamiento con la Adenilato ciclasa o ambos. El número de receptores beta 2 aumenta y también se produce una sobreexpresión de los receptores alfa. La activación prolongada de estos receptores se ha asociado con diversos cambios perjudiciales<sup>(52)</sup>:

- La activación sostenida de los receptores beta 1 y 2 mantenida produce un incremento en los niveles de AMPc y de calcio intracelular en los miocitos. Este



estado es tóxico para las células y activa las señales secundarias que conducen a la apoptosis celular, con la consiguiente pérdida de masa útil. Se cree que los receptores alfa vasculares pueden favorecer este estado ya que la vasocronstricción que generan aumenta el estrés parietal de los miocitos.

- La activación de los receptores alfa 1 induce hipertrofia de los miocitos y aumento del la cantidad de colágeno extracelular. Esto conlleva un aumento de las demandas de oxígeno que justifica que en la IC pueda producirse isquemia en ausencia de enfermedad coronaria.
- Tanto la activación de los receptores beta como la de los alfa de forma crónica pueden favorecer la aparición de arritmias. Esto es consecuencia tanto del efecto directo sobre la automaticidad como por la generación de hipertrofia y fibrosis que alteran la arquitectura cardíaca y pueden favorecer las arritmias por reentrada.

### **Sistema renina-angiotensina**

La activación del sistema renina-angiotensina (SRA) da lugar a la formación de angiotensina II, que es un potente vasoconstrictor. Activa además la aldosterona, hormona responsable de la retención de sodio y agua, e interacciona con el sistema simpático potenciando el aumento del tono vascular. Inicialmente se pensó que la angiotensina II sólo se generaba en la circulación, pero pronto se descubrió que también podía sintetizarse a nivel tisular.

A nivel sistémico, el estímulo que induce la formación de angiotensina II se inicia a nivel renal, donde la disminución de la presión de perfusión, el aumento de la actividad simpática y la reducción del aporte de sodio a la mácula densa estimulan la secreción de renina por el aparato yuxtaglomerular. La renina es una proteasa que cataliza el paso de angiotensinógeno – liberado por el hígado- a angiotensina I, que también es inactiva, y que,

mediante la enzima de conversión de la angiotensina (ECA), se transforma en angiotensina II. La ECA activa también la degradación de bradiquininas que tienen efecto vasodilatador, hecho que contribuye a potenciar la vasoconstricción inducida por la angiotensina II.

A su vez, la angiotensina II estimula la secreción de aldosterona, vasopresina, catecolaminas y endotelina, mediadores que inducen vasoconstricción y retención de sodio y agua, potenciando así sus acciones mal adaptativas.

La vía tisular ha sido objeto de extensos estudios en los últimos años. Se ha demostrado un aumento de la ECA tisular en situaciones de isquemia y, en general, ante cualquier aumento de estrés de la pared miocárdica. La angiotensina II sintetizada a nivel tisular tiene un efecto paracrino y autocrino cuyos efectos son hipertrofia, aumento de la fibrosis y fenómenos de apoptosis.

En resumen, los niveles elevados de angiotensina II y de aldosterona producen un incremento mantenido de la volemia que, a la larga, produce congestión sistémica y pulmonar. La vasopresina inhibe la capacidad del riñón para excretar agua libre, lo cual puede provocar hiponatremia (hallazgo frecuente en etapas avanzadas de la enfermedad y factor de mal pronóstico). Sin embargo, cada vez se conocen más efectos de la angiotensina II y de la aldosterona a nivel vascular y cardíaco, entre los que se incluyen fibrosis vascular y miocárdica, apoptosis y reducción de las cifras de óxido nítrico. Estas acciones pueden ser el vínculo de unión entre las acciones a nivel molecular y la capacidad para disminuir la muerte súbita y el remodelado de los inhibidores del sistema renina-angiotensina-aldosterona<sup>(52;54-56)</sup>.

## Activación del sistema inflamatorio

En la última década se ha constatado que la IC se acompaña de una importante reacción inflamatoria con repercusiones tanto sistémicas como locales. El origen de esta reacción inflamatoria aún es desconocido, y probablemente en su activación intervienen diversos factores; lo que sí parece claro es que ejerce un importante papel en el remodelado ventricular, la caquexia y la fatiga de los músculos periféricos que presentan los enfermos con IC Terminal<sup>(60)</sup> (Figura 11).

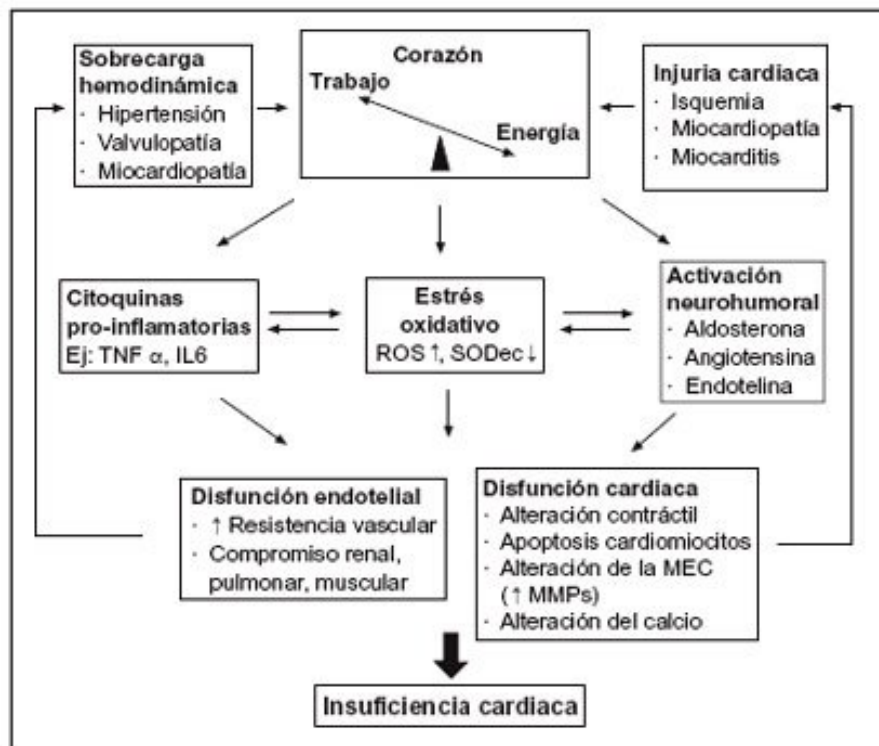


Figura 11. Activación del Sistema inflamatorio en la Insuficiencia Cardíaca<sup>(60)</sup>

## Estrés miocárdico: Péptidos natriuréticos

El precursor del péptido natriurético cerebral (BNP) es una pre-prohormona de 134 aminoácidos que es sintetizada en los miocitos. La liberación de la prohormona BNP (péptido de 108 aminoácidos) se realiza en respuesta al estrés hemodinámico – es decir, en

ventrículos dilatados y/o hipertróficos o en aquellos en los que la presión de la pared aumenta-. Una vez liberado el BPN, actúa sobre él una endoproteasa que da lugar a 2 polipéptidos, uno inactivo (NT-pro-BNP) y la forma activa, el BNP de 32 aminoácidos entre cuyos efectos están producir vasodilatación arterial, diuresis, natriuresis y la reducción de la actividad de los sistemas renina-angiotensina-aldosterona y nervioso simpático. En resumen, las acciones del BNP son opuestas a las respuestas fisiológicas deletéreas que se producen en la IC<sup>(52;61)</sup>.

La determinación de los niveles de BNP parecen ser útiles en el diagnóstico y estratificación de los pacientes con IC crónica y mejor predictor de mortalidad que los niveles de norepinefrina<sup>(62-63)</sup>. También son útiles en el estudio de sujetos asintomáticos con riesgo de padecer IC (pacientes ancianos, coronarios, diabéticos, hipertensos y pacientes sometidos a quimioterapia)<sup>(63)</sup>.

Los péptidos natriuréticos son eliminados vía renal, y la hipervolemia e hipertensión característicos de la insuficiencia renal aumentan los niveles especialmente de NT-pro-BNP. Con la edad también aumentan los niveles de BNP circulantes, presumiblemente en relación con la fibrosis miocárdica o la disfunción renal frecuentes en el anciano. La hipertensión pulmonar también aumenta los niveles de BNP. Estos niveles son inversamente proporcionales al índice de masa corporal. Todas estas consideraciones deben ser tenidas en cuenta a la hora de interpretar los niveles de BNP en un paciente en concreto<sup>(61-63)</sup>.

Existen otros marcadores de estrés miocárdico como la adrenomedulina y el ST2; sin embargo, los métodos analíticos para su determinación aún no están bien estandarizados<sup>(64)</sup>.

#### **2.2.4 Remodelado de cavidades en la insuficiencia cardiaca**

El remodelado cardiaco es importante en la progresión de prácticamente todas las enfermedades cardiovasculares. El remodelado ventricular es un proceso complejo que no se comprende en su totalidad. Parece que hay múltiples vías de retroalimentación todavía sin identificar que responden a los acontecimientos mecánicos, así como a la estimulación neurohormonal y la liberación de citocinas y otros agentes. En este proceso están involucrados los fibroblastos, las proteínas de la matriz extracelular, la vascularización coronaria y los miocitos cardiacos<sup>(52;65)</sup>.

En la insuficiencia cardiaca el recambio de la matriz extracelular es el principal factor determinante de remodelado cardiaco. Las funciones fisiológicas principales de esta red son retener la integridad del tejido y la función de la bomba cardiaca. El depósito de colágeno se controla y modula a través de factores hormonales, factores de crecimiento, citoquinas, proteínas reguladoras y/o factores hemodinámicos.

Se precisa un balance adecuado en la síntesis de la matriz extracelular y su degradación para un normal mantenimiento de la arquitectura del tejido cardiaco. El exceso de colágeno conduce a una mayor rigidez del miocardio y contribuye al desarrollo de la insuficiencia cardiaca. Por tanto, el remodelado que inicialmente es una respuesta fisiológica a ciertos agentes, se transforma en mecanismo activo en la fisiopatología de la insuficiencia cardiaca.

La síntesis de colágeno es un proceso intracelular, mientras que su depósito en la matriz extracelular depende de un correcto equilibrio entre las metaloproteinasas matriciales (MMP) y los inhibidores de tejido de las MMP. Parece probable que un efecto paracrino/autocrino de diversas citocinas en las células inflamatorias y miocárdicas interviene activamente en la alteración del equilibrio normal de la matriz extracelular.

Se ha demostrado que las citoquinas proinflamatorias, como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF $\alpha$ ) y la interleucina (IL) 6 inducen la expresión de las MMP. El TNF $\alpha$  tiene múltiples funciones fisiológicas mediadas por su unión a receptores específicos. En los miocitos cardiacos se han identificado células activadas presentes en el tejido cardiaco, como macrófagos, células endoteliales y miocitos, productoras de TNF $\alpha$ , y receptores del mismo<sup>(52;66-67)</sup>.

La progresión del remodelado ventricular incluye: disminución y reducción de miocitos en el área infartada, dilatación de la cámara, fibrosis y formación de cicatriz, disolución del colágeno y acumulación excesiva de la matriz intersticial, aumento del estrés de pared, hipertrofia de miocito, activación neurohormonal, liberación de citocinas, hipertrofia, necrosis y apoptosis celular y deterioro mantenido de la función cardiaca. Es imposible ordenar la secuencia de acontecimientos, porque los múltiples sistemas de retroalimentación crean un proceso interactivo.

### **2.3 DISFUNCIÓN ENDOTELIAL EN LA INSUFICIENCIA CARDIACA**

Además de ser una barrera entre la sangre circulante y los tejidos subyacentes, el endotelio juega un papel crucial en la regulación del tono vascular y en general de la homeostasis cardiovascular. El endotelio modula el tono vascular mediante la liberación de vasodilatadores (como el óxido nítrico, prostaciclina, bradicinina etc) y vasoconstrictores (como la endotelina-1, la angiotensina II etc) (*Figura 12*) en respuesta a diferentes estímulos tanto físicos como bioquímicos<sup>(52;55-56;58)</sup>.

Las funciones reguladoras del endotelio se ven alteradas durante el curso de todas las enfermedades vasculares, incluyendo la aterosclerosis, la enfermedad coronaria, la hipertensión, la diabetes mellitus, la preeclampsia...etc. El Óxido Nítrico y la Endotelina-1

son respectivamente, el mayor vasodilatador y el mayor vasoconstrictor dentro de las sustancias que libera el endotelio para la regulación del tono vascular, y su interacción ha sido objeto de extensos estudios, existiendo en todas las enfermedades cardiovasculares un desequilibrio entre el óxido nítrico y la endotelina-1 <sup>(56-59)</sup>.

El óxido nítrico, que puede ser producido por prácticamente todas las células del corazón, actúa como regulador paracrino, autocrino e intracrino de la función cardíaca a través de acciones directas sobre los cardiomiocitos y de acciones indirectas, consecuencia de sus efectos vasculares. En el miocardio, el óxido nítrico regula, entre otros procesos, el acoplamiento excitación-contracción, la frecuencia cardíaca, el tono vegetativo, la respiración mitocondrial, los procesos de hipertrofia y apoptosis, y la fase tardía del preconditionamiento isquémico<sup>(56)</sup>. A escala vascular el óxido nítrico regula el tono vascular, la perfusión coronaria, la permeabilidad capilar y la agregación plaquetaria y, además desempeña un importante papel en el control de la angiogénesis, la inflamación y la proliferación celular vascular<sup>(52;56;59)</sup>.

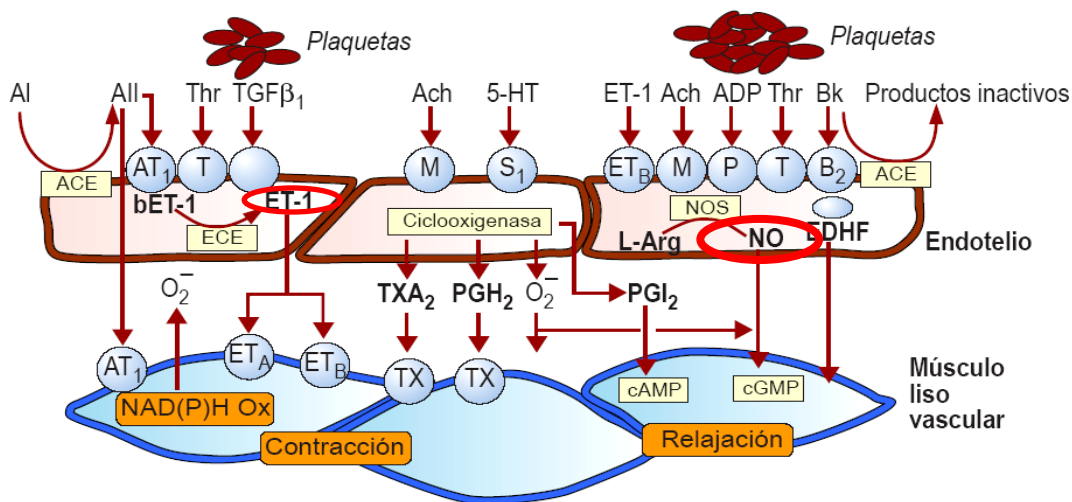


Figura 12. Regulación del tono vascular

### **2.3.1 La endotelina-1 en la fisiopatología de la insuficiencia cardiaca**

La endotelina (ET) es un péptido compuesto por 21 aminoácidos aislado por primera vez en 1988, además de sus propiedades vasoconstrictoras directas, la ET tiene efectos a largo plazo sobre la proliferación y fenotipo de las células musculares lisas del endotelio. La endotelina se sintetiza a partir una pre-prohormona (ET-1 gigante) mediante diversos enzimas de conversión. Existen 3 isoformas: ET-1, ET-2 y ET-3. La ET-1 es la isoforma predominante que se sintetiza en el endotelio vascular y es el vasoconstrictor más potente. ET-2 está presente en el riñón y el intestino donde tiene propiedades vasoconstrictoras similares. ET-3 está predominantemente en el sistema nervioso central y tiene efectos vasoconstrictores mínimos. Todas estas isoformas son eliminadas rápidamente de la circulación sanguínea en el riñón, los pulmones y el hígado<sup>(52;54)</sup>. Existen dos receptores de endotelina: el A y el B. Ambos se expresan en diversas células: células endoteliales, células musculares lisas, miocardiocitos y fibroblastos. Existe un tercer tipo de receptor, el C, que aún no ha sido aislado en humanos<sup>(52)</sup>.

La liberación de endotelina por parte de las células endoteliales in vitro puede estimularse mediante diversas sustancias vasoactivas (p. ej., la noradrenalina, la angiotensina-II o la trombina) y citoquinas como el Factor de Crecimiento tumoral beta y la Interleucina 1beta<sup>(52)</sup>. ET-1 es la isoforma predominante y la más ampliamente sintetizada por el endotelio vascular, pero puede sintetizarse también en fibroblastos y miocitos ventriculares.

En el miocardio normal, el receptor tipo A de endotelina es el predominante en miocitos cardiacos mientras que el tipo B predomina en fibroblastos. La densidad de receptores de endotelina es dos veces mayor en el tejido ventricular que en el auricular<sup>(52)</sup>.



La activación del receptor A en las células musculares lisas del endotelio produce tanto vasoconstricción como proliferación de las mismas. En cambio la activación del receptor tipo B produce vasodilatación mediante la liberación de óxido nítrico. En humanos, antagonistas selectivos del receptor tipo A produce vasodilatación asociada a la producción de óxido nítrico<sup>(52)</sup>.

En diversos estudios se ha observado que las concentraciones circulantes de endotelina-1 aumentan en los pacientes con insuficiencia cardíaca, al igual que guardan una relación directa con las presiones en arteria pulmonar y, en particular, con la resistencia vascular pulmonar y el cociente resistencia pulmonar/resistencia sistémica. Estos hallazgos han llevado a la suposición de que la endotelina tendría cierta influencia en la génesis de la hipertensión pulmonar en pacientes con insuficiencia cardíaca<sup>(52;54;55;58)</sup>.

En pacientes con insuficiencia cardíaca los niveles plasmáticos de endotelina-1 se correlacionan con la clase clínica (clase funcional de la New York Heart Association) así como con la gravedad de la disfunción sistólica. También se ha demostrado que los niveles plasmáticos de endotelina aumentan en los pacientes con infarto agudo de miocardio y se correlacionan con el grado de insuficiencia cardíaca (clase Killip) en la fase aguda<sup>(52;58)</sup>.

Existen antagonistas de los receptores de la endotelina que se han utilizado para demostrar los efectos fisiológicos de la misma. Cuando se administra el antagonista de la endotelina Bosentan a ratas con IC secundaria a infarto de miocardio, bloqueando los receptores de endotelina A y B, disminuye la presión arterial; este efecto se potencia si se administra simultáneamente de un inhibidor de la enzima de conversión de la angiotensina. En miocitos cardíacos cultivados, la endotelina provoca hipertrofia celular asociada a inducción de genes fetales. Estas observaciones sugieren que los antagonistas de los receptores de la endotelina podrían ser útiles en el tratamiento agudo y crónico de los

pacientes con insuficiencia cardíaca. La administración de antagonistas de la endotelina en los pacientes ha demostrado mejorías hemodinámicas, pero se desconocen los efectos a largo plazo en la progresión de la enfermedad y en la supervivencia.<sup>(55-58)</sup>

La ET-1 podría jugar un importante papel en la inflamación, ya que aumenta la permeabilidad vascular, induce la liberación de citoquinas y estimula la producción de moléculas de adhesión<sup>(52;54)</sup>.

La endotelina es expresada en el miocardio, donde tiene un potente efecto inotrópico. Por una parte, aumenta la sensibilidad de los miofilamentos al calcio. En el corazón insuficiente podría tener un efecto inotrópico negativo, y proarrítmico<sup>(55-58)</sup>.

En el corazón humano insuficiente, la estimulación crónica de receptores A aumenta los niveles plasmáticos y miocárdicos de endotelina, lo cual conduce a hipertrofia de miocitos y proliferación de fibroblastos<sup>(55-58)</sup>.

La síntesis de ET-1 puede ser estimulada “in Vitro” mediante hipoxia, isquemia, noradrenalina, angiotensina II y vasopresina, así como por diversas citoquinas inflamatorias (interleucina-1b). Muchos de estos estímulos están aumentados en el corazón humano insuficiente, contribuyendo así al remodelado ventricular. En un modelo con ratas, la sobreexpresión de ET-1 se asoció con un aumento de la expresión de citoquinas inflamatorias y con el desarrollo de miocardiopatía dilatada<sup>(68)</sup>

La ET-1 circulante modula la función renal y la actividad del sistema renina-angiotensina y el sistema nervioso simpático. En sujetos sanos, la ET-1 ayuda a mantener la homeostasis, mientras que en pacientes con insuficiencia cardíaca, los niveles de ET-1 están aumentados, contribuyendo a la vasoconstricción renal y la retención de sodio<sup>(52;58)</sup>.

### **2.3.2 El óxido nítrico en la fisiopatología de la insuficiencia cardiaca**

La producción de óxido nítrico está catalizada por tres isoformas principales de la sintasa del óxido nítrico, la neuronal (nNOS), la inducible (iNOS) y la endotelial (eNOS)<sup>(52)</sup>. En el corazón humano, tanto la forma inducible con la endotelial están implicadas en vías de señalización que regulan las propiedades contráctiles de los cardiomiocitos. La iNOS se expresa en el corazón tanto en el endocardio como en el endotelio de los vasos coronarios, así como en los cardiomiocitos y en las células especializadas del sistema de conducción, y su actividad parece regular el estado contráctil del corazón. La isoforma inducible, que no se expresa normalmente en el miocardio pero que se sintetiza en respuesta a citoquinas inflamatorias, producen óxido nítrico en grandes cantidades. La expresión y la actividad de la iNOS2 aumenta en el miocardio obtenido de pacientes con insuficiencia cardíaca severa, posiblemente como resultado del estímulo por parte de citoquinas inflamatorias<sup>(52;56)</sup>.

El estrés parietal y el flujo pulsátil son los mayores estímulos para la liberación de óxido nítrico en condiciones basales. El óxido nítrico, además de producir vasodilatación, inhibe la adhesión y agregación plaquetaria, así como la proliferación de células musculares lisas, la adhesión de monocitos al endotelio y la producción de endotelina-1<sup>(56)</sup>.

La producción basal de óxido nítrico endotelial mejora la contractilidad miocárdica y aumenta la frecuencia cardiaca, mientras la expresión de óxido nítrico inducible tiene acciones cardiodepresoras ya que a altas concentraciones produce un efecto inotrópico negativo<sup>(56)</sup>.

Los niveles de actividad del óxido nítrico en el miocardio insuficiente humano son variables y afectan a diversos tipos de óxido nítrico y la heterogeneidad del fallo cardíaco. Se ha observado un aumento en la actividad de la sintasa endotelial de óxido nítrico y de la sintasa neuronal, y un aumento en la producción de óxido nítrico en miocitos de pacientes

con IC isquémica y en pacientes con miocardiopatía dilatada. La expresión de la sintasa inducible parece estar relacionada con los niveles de TNF alfa. El óxido nítrico en el miocardio insuficiente podría tener tanto efectos beneficiosos como deletéreos:

1. En un modelo animal de infarto agudo de miocardio, la presencia de eNOS limitaría la disfunción ventricular y el remodelado del VI, en parte al disminuir la hipertrofia de los miocitos en el miocardio no infartado<sup>(56-57)</sup>.
2. Otro modelo animal mostró que el óxido nítrico disminuía la producción de energía de los miocitos afectando directamente a la función mitocondrial. Este hecho tendría por una parte un efecto beneficioso, ya que reduciría los radicales libres generados a nivel mitocondrial, y un efecto deletéreo al limitar la energía disponible para el miocito<sup>(57)</sup>.
3. Por otra parte, el óxido nítrico podría disminuir la respuesta inotrópica mediada por estimulación beta adrenérgica<sup>(57)</sup>.

La expresión del gen que codifica la sintasa inducible del óxido nítrico, así como la producción local del mismo parece estar aumentada en el músculo esquelético de los pacientes con IC. Esto podría contribuir a una reducción en la función contráctil muscular.

En la Insuficiencia Cardíaca existe un desequilibrio entre las vías enzimáticas que producen radicales libres y el óxido nítrico; sin embargo la hipótesis de que el óxido nítrico desempeña un importante papel en la etiopatogenia de la insuficiencia cardíaca no concuerda con el hallazgo de que el óxido nítrico ejerce un efecto cardioprotector frente a la isquemia o que en el miocardio insuficiente hay una menor expresión del mismo. Ello sugiere que los cambios en la expresión de las isoformas 2 y 3 de la sintasa del óxido nítrico puede ser un epifenómeno que acompaña a la insuficiencia cardíaca, pero no su causa<sup>(56-59)</sup>.

En la IC crónica existe siempre cierto grado de disfunción endotelial arterial probablemente en relación con una disminución de la síntesis de óxido nítrico vía eNOS, así como una menor respuesta del endotelio al óxido nítrico. No ocurre así en la función endotelial venosa, ya que se ha demostrado que la capacitancia del lecho venoso está preservada en condiciones de IC.

En la IC existe un aumento de radicales libres, que se ha demostrado que inactivan diversas formas de óxido nítrico. Existe un estudio que avala esta hipótesis en el que se demostró que los suplementos de vitamina C en pacientes con IC mejoraban la función endotelial al aumentar la disponibilidad de óxido nítrico.

### **2.3.3 Relación entre la endotelina y el óxido nítrico en la insuficiencia cardiaca**

El correcto equilibrio entre la endotelina y el óxido nítrico es crucial para mantener la homeostasis cardiovascular y prevenir la disfunción endotelial.

La disminución de óxido nítrico endotelial es una de las causas de disfunción endotelial. Así, en la insuficiencia cardiaca la liberación de óxido nítrico está inactivada por la liberación de radicales libres de oxígeno y el aumento de determinadas citoquinas que incrementan la expresión de la isoforma inducible, que posee efectos cardiodepresores.

La disminución de la producción de óxido nítrico se acompaña generalmente de un incremento plasmático de las concentraciones de endotelina-1 y, de la misma forma, el estrés oxidativo promueve la síntesis de endotelina-1 por el endotelio<sup>(59)</sup>. Por otra parte, el aumento en los niveles de endotelina-1 incrementa la producción de óxido nítrico a través de los receptores tipo B de endotelina-1 de la células endoteliales induciendo un aumento en la concentración del calcio intracelular<sup>(60)</sup>.

Se ha descrito un aumento del estrés oxidativo en la IC, que se debe en parte a la activación de los radicales libres y en parte a la disminución de la actividad antioxidante. Los radicales libres se forman a consecuencia de la activación de citoquinas, sobre todo

TNF-alfa, de la liberación de óxido nítrico, de la angiotensina II y también del aumento del estrés mecánico. Los radicales libres activan genes que median proliferación, favorecen fenómenos de apoptosis y la activación de fibroblastos, mecanismos que median el remodelado ventricular<sup>(54)</sup>.

## **2.4 LA INFLAMACIÓN EN LA INSUFICIENCIA CARDIACA**

Se ha demostrado que la inflamación juega un importante papel en la patogénesis y progresión de diversas formas de insuficiencia cardíaca y, por tanto, los marcadores de inflamación han sido objeto de una amplia investigación<sup>(57,60)</sup>.

En 1956 se publicó el primer estudio en el que demostraba que la proteína C reactiva podía detectarse en pacientes con insuficiencia cardíaca. Múltiples estudios posteriores han demostrado que los niveles elevados de proteína C reactiva constituyen un factor predictor independiente de mal pronóstico en pacientes con insuficiencia cardíaca aguda o crónica. En el Estudio de Framingham los niveles de proteína C reactiva, así como los de IL-6 y TNF-a se utilizaron para detectar pacientes ancianos asintomáticos con alto riesgo de desarrollar IC en el futuro<sup>(69-70)</sup>.

En la IC existe un aumento de citoquinas inflamatorias circulantes y de sus receptores solubles, que contribuyen al deterioro de la función cardíaca. Las citoquinas conforman una amplia familia de péptidos de bajo peso molecular que se activan mediante factores de transcripción génica. La mayoría de sus acciones se realizan a través de receptores localizados en células diana, donde actúan de forma paracrina y autocrina.

### **2.4.1 Citoquinas en la insuficiencia cardiaca**

En la IC se activan las citoquinas que participan de la respuesta inflamatoria que se produce ante una agresión, el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa), la interleucina 6 (IL-6) y la interleucina 1 (IL-1).

La citoquina más estudiada en relación con la IC es el TNF-alfa. Otras citoquinas son la IL-1b, IL-2, IL-6 y la Proteína C reactiva<sup>(52;57;60)</sup>.

Se ha demostrado que los niveles medios de factor de necrosis tumoral alfa son mayores en los pacientes con insuficiencia cardiaca que en controles sanos, y que aquellos individuos con mayores cifras circulantes de TNF-alfa están más caquéticos, tienen mayor actividad de renina plasmática y menor concentración de sodio y de hemoglobina, indicando un grado más avanzado de enfermedad. Se ha visto además que el corazón sano no expresa TNF mientras que el corazón con disfunción ventricular sí lo hace<sup>(52;55)</sup>. Se han propuestos varios mecanismos a través de los cuales el TNF actúa sobre la actividad cardíaca:

- 1) Desacoplamiento de los receptores beta adrenérgicos de la vía de la adenilciclase.
- 2) Activación de la vía de las metaloproteinasas e inhibición de los receptores de ésta lo cual podría incidir de forma significativa sobre la remodelación de la matriz extracelular, conduciendo a dilatación ventricular.
- 3) Activación de la sintasa del óxido nítrico, lo cual puede relacionarse con una mayor alteración en la contractilidad.
- 4) Hipertrofia en los miocitos cardíacos, síntesis de proteínas sarcoméricas, inducción de la apoptosis y expresión de genes fetales.

La Proteína C reactiva es un reactante de fase aguda que se produce en el hígado en respuesta a la interleucina 6. Se han hallado niveles elevados de PCR en pacientes con fallo cardíaco en correlación directa con la gravedad e independientemente de la causa de la disfunción ventricular<sup>(52;55;57)</sup> (Figura 13).

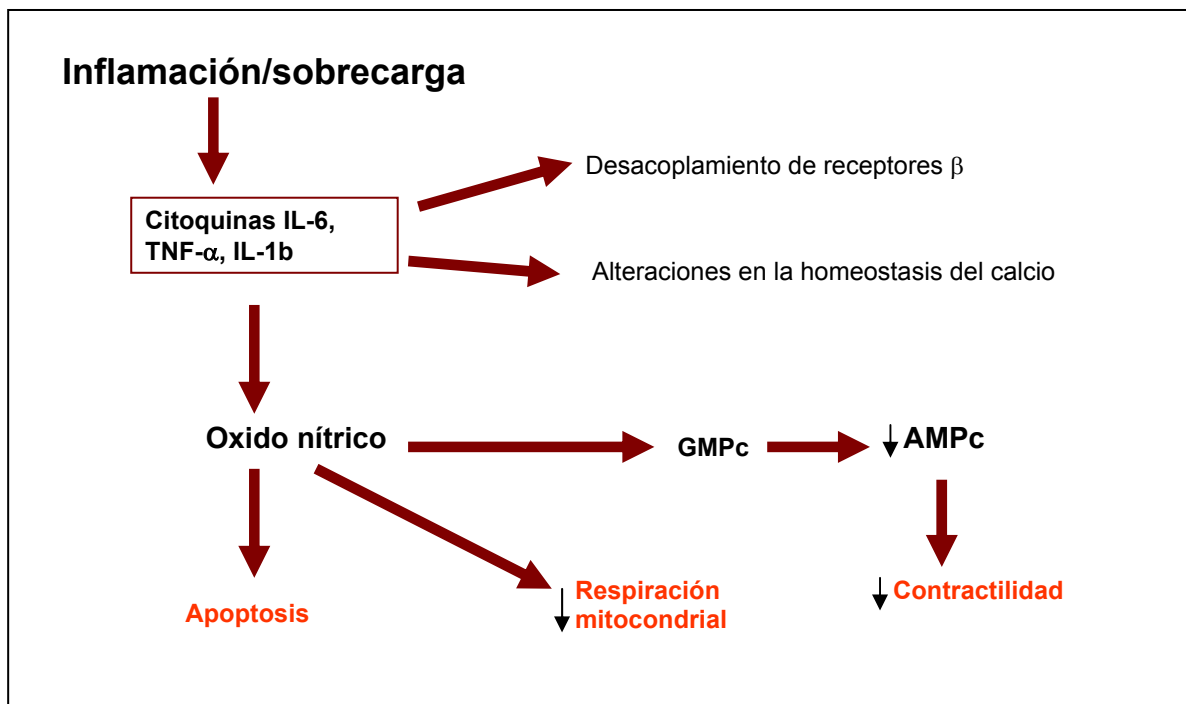


Figura 13. Mecanismo inotrópico negativo de las citoquinas sobre el miocardio. La liberación local de citoquinas aumenta la síntesis de óxido nítrico en el miocardio, cuyo efecto inotrópico negativo es multifactorial.

#### **2.4.2 IL-6 en la insuficiencia cardíaca**

Al igual que en el caso del TNF- $\alpha$ , la IL-6 es una citoquina multifuncional, con acciones proinflamatorias y vasodepresoras, implicada en la respuesta inmune e inflamatoria. A nivel cardiovascular, se ha visto que produce disfunción miocárdica, alteraciones en la respuesta endotelial y agotamiento muscular.



Existen estudios que muestran niveles elevados de IL-6 en pacientes con IC avanzada, y que los relacionan con una mayor mortalidad<sup>(67)</sup>.

Junto con su receptor, puede que juegue un papel importante en la remodelación e hipertrofia miocárdica. Se ha encontrado relación entre los niveles de IL-6 y la clase funcional así como con el pronóstico de la insuficiencia cardíaca<sup>(69-70)</sup>.

### **2.4.3 Ciclooxygenasa en la insuficiencia cardíaca**

Las ciclooxigenasas 1 y 2 son las enzimas claves en la conversión del ácido araquidónico a prostaglandina H<sub>2</sub>, el precursor de una familia de mediadores lipídicos donde se incluyen los tromboxanos y las propias prostaglandinas<sup>(52;55;57)</sup>.

Las COX 1 y 2 tienen un papel esencial en los procesos de coagulación, en la función renal, en el mantenimiento e integridad del tracto gastrointestinal y también participan en procesos como la inflamación, la artritis, la enfermedad de Alzheimer y el cáncer<sup>(52)</sup>.

La expresión de COX 2 suele ser menor en la mayoría de los tejidos con respecto a la de COX1. Se induce por una gran variedad de mediadores incluyendo citocinas, factores de crecimiento, promotores tumorales, o irradiación UVB<sup>(52;92)</sup>.

La COX-2 parece jugar un papel importante en los efectos deletéreos de la inflamación sobre el miocardio. Se ha demostrado que en pacientes con IC avanzada, la expresión de COX-2 en miocitos y células inflamatorias estaba aumentada en zonas fibrosas o de escara, pero no en áreas de miocardio normal; en el miocardio de sujetos controles no se objetivó expresión de COX-2<sup>(71)</sup>.

### **3.- GENÉTICA DE LA INSUFICIENCIA CARDIACA**

Los genes influyen tanto en la etiología como en la patogenia de prácticamente cualquier trastorno de la fisiología y del comportamiento humano, incluyendo, por supuesto los trastornos del sistema cardiovascular. Actualmente se sabe que la base patogénica de cardiopatías como la miocardiopatía hipertrófica o dilatada hereditarias, se halla en la mutación de un gen único (*Tabla 1*). Este tipo de trastorno genético no es lo más frecuente y, aunque ha sido muy importante para entender los mecanismos de muchas enfermedades, tiene una importancia limitada en términos poblacionales. Así, pacientes con mutaciones genéticas idénticas pueden presentar manifestaciones clínicas muy diferentes de una cardiomiopatía. Esto sugiere con alta probabilidad que también los factores ambientales y otro tipo de factores genéticos tienen un papel importante y es por eso que, para comprender los efectos genéticos en la insuficiencia cardiaca, debemos tener en cuenta la fisiopatología, la bioquímica y los mecanismos moleculares, y dejar a un lado los simplistas modelos mendelianos<sup>(52;72-75)</sup>.

Tabla 1. Principales mutaciones asociadas a miocardiopatías hereditarias<sup>(52)</sup>

MUTACIÓN	ALTERACION MOLECULAR	CARDIOPATIA
15q11-14	Alfa-actina	Hipertrófica Dilatada
2q35	Desmina	Dilatada
6q22.1	Fosfolamban	Dilatada
14q12	Cadena pesada alfa- miosina	Hipertrófica Dilatada
6p24	Desmoplaquina	Dilatada
15q22.1	Tropomiosina-1	Hipertrófica
19q13.4	Troponina I	Hipertrófica

### 3.1- POLIMORFISMOS GENÉTICOS EN LA INSUFICIENCIA CARDIACA

---

Es ampliamente conocido desde hace años que las enfermedades cardiovasculares tienen un componente hereditario importante. Esto se deduce de los numerosos estudios realizados en familias y en gemelos que han descrito el riesgo que comporta tener familiar afectado.

Sin embargo, la identificación de los genes responsables del aumento del riesgo ha sido un proceso lento y difícil, que se ha visto impulsado en los últimos años gracias a los avances en genética que han permitido detectar cambios en la secuencia del ADN que pueden tener un efecto patógeno<sup>(72;74)</sup>.

Mutación y polimorfismo son palabras sinónimas. Ambos se caracterizan por la coexistencia de dos variedades o alelos del mismo gen, el alelo natural o silvestre y el alelo mutante. Pero suele reservarse el término de mutaciones para los cambios que alteran la función de la proteína codificada y son poco frecuentes.

En cambio, se denominan polimorfismos si las variaciones son comunes (por definición ocurren en más del 1% de la población) y la afectación funcional es modesta o mínima. Muchos polimorfismos, sin embargo no tienen consecuencia funcional alguna. La suma de varios polimorfismos desfavorables puede facilitar la aparición de una enfermedad, cuya manifestación requiere con frecuencia la existencia de un medio ambiente propicio <sup>(72-76)</sup>.

Los estudios de caracterización de enfermedades poligénicas pueden realizarse mediante estudios de asociación masivos empleando plataformas de genotipado en las que se rastrea todo el genoma o mediante el estudio de genes seleccionados por estar implicados en sistemas fisiológicos relacionados con la enfermedad, denominados genes candidatos.

Hasta ahora, la búsqueda en genes candidatos ha proporcionado mayor información. Entre los genes candidatos se podrían incluir, aquellos implicados en todos los sistemas fisiológicos de control de homeostasis cardiovascular así como los genes que ya han demostrado implicación en modelos animales (Tabla 2).

Las limitaciones de este tipo de estudios son consecuencia del escaso poder estadístico de la mayoría de ellos, la heterogeneidad de las poblaciones estudiadas, y del escaso efecto de los polimorfismos en una enfermedad multifactorial como es la insuficiencia cardíaca.

Tabla 2. Genes candidatos y principales polimorfismos estudiados en la insuficiencia cardíaca<sup>(73)</sup>

POLIMORFISMO	ALELO IMPLICADO	ASOCIACION CON IC	ASOCIACIÓN CON MCD	ASOCIACION CON MCH
<b>Sistema RAA</b>				
ACE I/D	<b>D</b>	+	+	+
AGT M235T	<b>T</b>	+	-	+
<b>Sistema simpático</b>				
A2AR Del322-325	<b>Del</b>	+	-	-
B1AR Ser49Gly	<b>Ser</b>	+	+	-
<b>Otros</b>				
TNF G-308A	<b>A</b>	+	+	+
<b>Sistema endotelial</b>				
END1 G8002A	<b>A</b>	-	-	+
<b>NOS3</b>	<b>Asp</b>	+	-	-
<b>Glu298Asp</b>				

## **3.2. POLIMORFISMOS DE GENES IMPLICADOS EN EL SISTEMA ENDOTELIAL E INFLAMACIÓN EN LA INSUFICIENCIA CARDIACA**

### **3.2.1 Polimorfismos de la Sintasa del Óxido Nítrico**

La sintasa endotelial del óxido nítrico se expresa en las células endoteliales vasculares y en 1992 se aisló el gen que la codifica <sup>(77)</sup>.

El gen de la eNOS (NOS3) se encuentra en el cromosoma 7q35-36 y está constituido por 26 exones con un tamaño de 21 kb que codifican un mRNA de 4052 nucleótidos <sup>(77-82)</sup>. Se han descrito diversos polimorfismos en el gen que codifica la isoforma endotelial de la sintasa del óxido nítrico, y algunos de ellos han sido relacionados con el desarrollo de hipertensión arterial, enfermedad coronaria e insuficiencia cardíaca <sup>(77)</sup> (Tabla 3).

Tabla 3. Polimorfismos del gen NOS3 y su asociación con enfermedades cardiovasculares<sup>(77)</sup>

POLIMORFISMO	LOCALIZACIÓN	CONDICIÓN EVALUADA	RESULTADOS
Ala27Cys	Intron 18	Hipertensión	-
Gly10Thr	Intron 23	Hipertensión	-
VNTR(CA)n	Intron 13,23	Hipertensión	+/-
		Enf.Coronaria	+
VNTR(27bp)	Intron 4	Hipertensión	+/-
		Enf.Coronaria	+/-
		IAM	+
Thr-786Cys	Región promotora	Enf.Coronaria	+/-
Glu298Asp	Exon 7	Enf.Coronaria	+/-
		Hipertensión	+/-
		IAM	+/-
		Insuf. Cardiaca	+

En el exón 7 del gen NOS3, se ha descrito un polimorfismo (894G>T) que da lugar a un cambio de glutamato por aspartato en la posición 298 de la proteína. La presencia de aspartato produce un cambio conformacional que dificulta la dimerización de la sintasa del óxido nítrico endotelial y, como consecuencia funcional, una menor síntesis de óxido nítrico<sup>(77-82)</sup>. Este polimorfismo se ha asociado con desarrollo de HTA<sup>(80)</sup> con un mayor riesgo de padecer enfermedad coronaria<sup>(78;81)</sup>, y también se ha asociado con una mayor susceptibilidad a la insuficiencia cardíaca<sup>(77;81-82)</sup>.

### **3.2.2.- Polimorfismos del gen de la Endotelina-1**

El gen que codifica la endotelina-1 ha sido identificado como uno de los genes candidatos implicados en las enfermedades cardiovasculares<sup>(83-85)</sup>. El gen que codifica la endotelina-1 se localiza en el cromosoma 6 y posee 5.5 kilobases. Contiene 5 exones y 4 intrones.

Se han descrito 6 polimorfismos de este gen, los 4 más comunes son los siguientes<sup>(86)</sup>:

- **T-1370G**
- **+138/ex1 del/ins**
- **T-37/in2C**
- **Lys198Asn**

De todos ellos el más estudiado es el que consiste en una transversión de Guanina a Timina y que se traduce en la sustitución de lisina por asparragina en el aminoácido 198 de la endotelina 1 (Lys198Asn). Pocos estudios han analizado la repercusión funcional de este polimorfismo y los resultados más frecuentes apuntan a que no existe relación entre la presencia del alelo mutante y los niveles de endotelina-1<sup>(85)</sup>.

Este polimorfismo se ha estudiado en relación con la hipertensión arterial aunque no en todos los estudios realizados se demostró su asociación<sup>(83-84)</sup>. También se asoció con



la hipertrofia ventricular izquierda, aunque en dicho estudio no se pudieron correlacionar los niveles circulantes de endotelina-1 con la presencia del polimorfismo<sup>(86-87)</sup>.

En relación con la insuficiencia cardíaca, existe un estudio que analiza la combinación de los polimorfismos Lys198Asn de la endotelina-1 y H323H del receptor tipo A de la endotelina-1, demostrando su asociación con la presencia de dilatación ventricular izquierda y con el riesgo de padecer insuficiencia cardíaca<sup>(88)</sup>.

### **3.2.3.- Polimorfismos del gen de la Ciclooxygenasa**

Las ciclooxigenasas 1 y 2 son las enzimas claves en la conversión del ácido araquidónico a prostaglandina H<sub>2</sub>, el precursor de una familia de mediadores lipídicos dónde se incluyen los tromboxanos y las propias prostaglandinas<sup>(92)</sup>.

Las COX 1 y 2 tienen un papel esencial en los procesos de coagulación, en la función renal, en el mantenimiento e integridad del tracto gastrointestinal y también participan en procesos como la inflamación, la artritis, la enfermedad de Alzheimer y el cáncer<sup>(93)</sup>.

La expresión de COX 2 suele ser menor en la mayoría de los tejidos con respecto a la de COX1. Se induce por una gran variedad de mediadores incluyendo citocinas, factores de crecimiento, promotores tumorales, o irradiación UVB<sup>(71;92-93)</sup>.

La COX-2 se expresa esencialmente en el riñón y se regula en respuesta a variaciones en el volumen intravascular. Los metabolitos de la COX-2 se han implicado en el mantenimiento del flujo renal, en la liberación de renina y en la regulación de la excreción de sodio. La inhibición de COX-2 puede disminuir transitoriamente la excreción urinaria de sodio en algunos sujetos e inducir hipertensión arterial. Incluso en algunas condiciones de volumen intravascular disminuido o de hipoperfusión renal,

variaciones en la actividad de la COX2 pueden tener efectos deletéreos en el mantenimiento del filtrado glomerular.

El gen de la COX2 (PTGS2) se localiza en el cromosoma 1q25.2-q25.3 se extiende 8.3 Kb y contiene 10 exones <sup>(92-93)</sup>.

Se han estudiado polimorfismos que pudiesen tener influencia en la función de la COX 2, como el V511A, sin encontrarse diferencias <sup>(92)</sup>. Recientemente, se ha demostrado cómo el polimorfismo -765G>C se asocia a un mayor riesgo de infarto de miocardio o cerebral al relacionarse con una mayor vulnerabilidad de la placa aterosclerótica <sup>(94-95)</sup>.

Existen múltiples estudios que intentan relacionar la presencia de polimorfismos de la COX-2 con una mayor predisposición a diversos eventos cardiovasculares: ictus, diabetes mellitus, hipertensión arterial, aterotrombosis, remodelado a nivel del lecho vascular<sup>(92-96)</sup> etc. Hasta el momento no existen estudios que relacionen el polimorfismo 8473C>T directamente con el desarrollo de insuficiencia cardiaca.

#### **3.2.4.- Polimorfismos del gen de la Interleucina-6**

Como ya se ha comentado, la IC es una enfermedad poligénica compleja donde la inflamación juega un importante papel. Por tanto, polimorfismos de genes implicados en la inflamación son candidatos adecuados para su estudio. La IL-6 es una importante citoquina proinflamatoria. El gen de la IL-6 en humanos se encuentra situado en el brazo corto de cromosoma 7 (7p21), mientras que el gen de su receptor (IL-6R $\alpha$ ) se sitúa en el brazo largo del cromosoma 1 (1q21)<sup>(98)</sup>. En los últimos años, se han descrito distintos polimorfismos de la región promotora del gen de la IL-6, como son el -

572G>C, el -373A(n)T(n), el -597G>A y el -174G>C, siendo este último el de mayor prevalencia e importancia biológica.

La distribución alélica del polimorfismo -174G>C gen de la IL-6 parece estar influida por el origen étnico y la distribución geográfica. Por un lado, se puede observar una distribución alélica diferente entre la raza blanca y la afroamericana. El genotipo GG en americanos nativos y caucásicos<sup>(100)</sup>, ha sido asociado a diabetes mellitus tipo 2, mientras un estudio sueco y otro de población franco-canadiense han relacionado al alelo C con el índice de masa corporal y la obesidad<sup>(98-100)</sup>. Variaciones en el gen de la IL-6 parecen estar asociadas con la modulación metabólica e inflamatoria y, por lo tanto, en la homeostasis de la glucosa y el riesgo de enfermedad cardiovascular<sup>(98-101)</sup>. El alelo G se ha asociado con el desarrollo de aterosclerosis y enfermedad coronaria<sup>(101)</sup>. El genotipo CC podría estar en relación con una predisposición a la disfunción endotelial en pacientes sanos fumadores varones, al encontrarse en estos pacientes un menor flujo absoluto en la arteria braquial.

La relación entre los niveles circulantes de IL-6 y las variantes del polimorfismo -174G>C no es consistente, ya que en la literatura existen estudios con diferentes resultados<sup>(97)</sup>.

Se ha estudiado también este polimorfismo en la muerte súbita del lactante, sin encontrar diferencia<sup>(102)</sup>. Asimismo se ha intentado relacionar con variaciones en la expresión de la hipertrofia cardíaca sin éxito<sup>(103)</sup>. En un estudio se relacionó la presencia del alelo C con una mayor predisposición a presentar fibrilación auricular tras cirugía cardíaca<sup>(105)</sup>.

## **HIPÓTESIS**

“La insuficiencia cardiaca viene determinada por la contribución de factores ambientales (hipertensión arterial, cardiopatía isquémica, etc) y factores genéticos. La evolución a la disfunción sistólica está determinada fundamentalmente por la etiología de la insuficiencia cardiaca y sus efectos sobre el remodelado del músculo cardiaco, sin embargo no todos los pacientes con la misma etiología evolucionan hacia la disfunción sistólica. Asimismo, la presencia de remodelado cardiaco, entendiendo éste como la dilatación del ventrículo izquierdo, aparece en un determinado grupo de pacientes. La presencia de ciertos perfiles genéticos podría determinar la evolución a la disfunción sistólica y el remodelado ventricular”.

## OBJETIVOS

### *Primarios*

---

1. Analizar las posibles diferencias en genes que codifican proteínas implicadas en la regulación endotelial y la inflamación entre pacientes con insuficiencia cardiaca con disfunción ventricular sistólica y con función ventricular sistólica preservada.
2. Analizar las posibles diferencias en genes que codifican proteínas implicadas en la regulación endotelial y la inflamación entre pacientes con dilatación y sin dilatación del ventrículo izquierdo.

### *Secundarios*

---

1. Investigar las diferencias encontradas en la distribución de los genotipos de los siguientes polimorfismos entre pacientes con insuficiencia cardiaca con disfunción sistólica y con función sistólica preservada:
  - a. Polimorfismo Glu298Asp del gen NOS3.
  - b. Polimorfismo Lys198Asn del gen EDN-1.
  - c. Polimorfismo 8473C>T del gen PTGS2.
  - d. Polimorfismo -174G>C del gen IL-6.

2. Analizar las posibles diferencias en la distribución de los genotipos de los siguientes polimorfismos entre pacientes con dilatación y sin dilatación del ventrículo izquierdo:
  - a. Polimorfismo Glu298Asp del gen NOS3.
  - b. Polimorfismo Lys198Asn del gen EDN-1.
  - c. Polimorfismo 8473C>T del gen PTGS2.
  - d. Polimorfismo -174G>C del gen IL-6.

## **1. MATERIAL Y MÉTODOS: POBLACIÓN DE ESTUDIO**

### **1.1.- SELECCIÓN DE PACIENTES**

---

Se incluyeron 190 pacientes que fueron atendidos de forma consecutiva en la Unidad de Insuficiencia Cardíaca del Hospital Universitario de Salamanca entre Enero de 2006 y Mayo de 2008.

El diagnóstico de insuficiencia cardíaca se realizó atendiendo a los criterios de Framingham<sup>(52)</sup>, y se incluyó a aquellos que cumplían dichos criterios. A todos ellos se les realizó un estudio ecocardiográfico (Ecocardiograma-doppler)-

A los pacientes seleccionados se les citó para una nueva revisión en la que se explicaban los objetivos de este estudio, se obtenía el consentimiento informado y se procedía a la extracción de 10 ml de sangre periférica mediante venopunción.

Durante esta visita se completaban los datos de estudio que no figurasen en la historia antigua consiguiendo los siguientes datos de cada uno de los pacientes:

1. Datos demográficos: edad, sexo.
2. Antecedentes cardiovasculares: hipertensión arterial, cardiopatía isquémica, diabetes mellitus, fibrilación auricular, enfermedad pulmonar obstructiva crónica.
3. Datos ecocardiográficos: fracción de eyección, dimensiones ventriculares izquierdas, alteraciones valvulares.
4. Datos analíticos: Ionograma (sodio y potasio). Creatinina. Hemoglobina.
5. Datos sobre el tratamiento.

6. Aproximación en el diagnóstico etiológico de la insuficiencia cardiaca.

## **1.2.- GRUPOS DE ESTUDIO**

---

Se agrupó a los pacientes según la fracción de eyección de cada sujeto, determinando como punto de corte el 50% para separar la población en dos grupos: pacientes con disfunción sistólica, considerando a todos aquellos con fracción de eyección inferior al 50% y pacientes con función sistólica conservada, considerando a aquellos con fracción de eyección igual o superior al 50%<sup>(52)</sup>.

Se agrupó a los pacientes según la presencia o no de remodelado ventricular, entendiendo como tal la dilatación del ventrículo izquierdo. Se consideró la presencia de dilatación atendiendo a los siguientes criterios ecocardiográficos<sup>(52)</sup>:

- 1) Diámetro telediastólico del ventrículo izquierdo en eje paraesternal largo superior a 60 mm o índice superior a 3,1 cm/m<sup>2</sup>.
- 2) Diámetro telesistólico del ventrículo izquierdo en eje paraesternal largo superior a 40 mm o índice superior a 2,1cm/m<sup>2</sup>.



## 2. MATERIAL Y MÉTODOS: DISEÑO DEL ESTUDIO

Realizamos un estudio *observacional de casos y controles*.

De cada uno de los genes de estudio se realizó un análisis según dos grupos preestablecidos, incluyendo un análisis por genotipos y otro por alelos. El análisis por alelos se realizó considerando que el sujeto fuese portador de un tipo de alelo (por ejemplo portador de alelo G (GG) y portador de alelo T (TT+TG)).

Se realizó inicialmente un análisis según el tipo de disfunción ventricular predominante atendiendo al valor de la fracción de eyección.

Posteriormente se realizó un análisis según la presencia o no de remodelado ventricular.

### 3. MÉTODOS

#### 3.1 EXTRACCIÓN DEL ADN A PARTIR DE SANGRE PERIFÉRICA

Se obtuvieron 10mL de sangre periférica de cada paciente por venopunción. Las células nucleadas de la sangre se aislaron mediante centrifugación repetida y lisis eritrocitaria con solución hipotónica (centrifugación de la sangre total en 50mL de ddH<sub>2</sub>O durante 30 minutos, 1500 rpm, a 4°C). Tras la recuperación de la interfase y lisis de los glóbulos rojos con agua destilada, se lavaron las células mononucleadas en tampón Fornace (0.25M Sacarosa; 50mM Tris-HCl pH: 7.5; 25mM KCl; 5mM MgCl<sub>2</sub>) y se precipitaron mediante centrifugación a 580 g durante 20 minutos. El botón de células nucleadas de la sangre se resuspendió en tampón Fornace a una concentración estimada de  $5 \times 10^6$  células/mL, tras lo cual se añadió EDTA (ácido etilendiamino-tetraacético, concentración final 10 mM), SDS (Dodecil sulfato sódico, concentración final 1%) y Proteinasa K (Boehringer Mannheim, concentración final 50 µg/mL). La mezcla se incubó a 55 °C durante 8-16 horas. Tras la incubación, se procedió a purificar el ADN con fenol y cloroformo<sup>(89)</sup>.

La concentración y el grado de contaminación proteica del ADN así obtenido, se calculó tras medir su absorbancia a 260 y 280 nm, respectivamente, en un espectrofotómetro (GeneQuant, Pharmacia) por medio de la siguiente fórmula:

$$\mu\text{g de DNA/mL} = (\text{D.O.}_{260}) \times (\text{factor de dilución}) \times (50)$$

**Nota:** 50 es un factor de corrección introducido ya que una unidad de densidad óptica con una luz incidente de 260 nm es el valor de absorbancia que tienen 50 µg de ADN/mL.

El cociente  $\text{D.O.}_{260}/\text{D.O.}_{280}$  se utiliza para determinar el grado de contaminación proteica, considerando como valores adecuados un cociente entre 1.65 y 2.0. Valores inferiores a los señalados indican

contaminación por proteínas o por solventes orgánicos, realizándose en estos casos una nueva purificación del ADN. Valores superiores parecen indicar un exceso de ARN, el cuál se eliminó tratando la solución de ADN con ARNasa y purificando nuevamente según el método antes descrito.

La muestra de ADN con una concentración aproximada entre 1,000 y 1,500  $\mu\text{g/mL}$ , se almacenó en tubos Eppendorf® a  $-20^{\circ}\text{C}$ , con el fin de evitar tanto la degradación progresiva del ADN como su posible contaminación por microorganismos.

### **3.2 AMPLIFICACIÓN DE FRAGMENTOS DE ADN MEDIANTE PCR**

Las reacciones de amplificación se realizaron con los productos comerciales que contienen Taq DNA polimerasa PCR Supermix (Gibco-BRL) y Master Mix (Promega) y se emplearon entre 1  $\mu\text{L}$  y 4  $\mu\text{L}$  de la mezcla de los dos oligonucleótidos flanqueantes y 1  $\mu\text{L}$  del ADN obtenido por el método anteriormente descrito (concentración = 0,1-0,2  $\mu\text{g/mL}$ ).

Para asegurar que no existía contaminación y que las reacciones eran específicas para cada muestra de partida, se preparó, como control una reacción conteniendo todos los reactivos antes citados excepto ADN molde. Todas las reacciones de amplificación se llevaron a cabo en un termociclador automático y la manipulación post-PCR se realizó en un laboratorio distinto de donde se llevó a cabo la extracción del ADN.

### **3.3 DISCRIMINACIÓN ALÉLICA MEDIANTE DIGESTIÓN CON NUCLEASAS DE RESTRICCIÓN**

Incubamos 7-17  $\mu\text{L}$  del producto de PCR con 10 unidades de la endonucleasa de restricción correspondiente y 2  $\mu\text{L}$  de tampón de digestión a la temperatura específica de cada enzima durante un tiempo que varía de 4-7 horas. Posteriormente los alelos se identificaron mediante su visualización por electroforesis en gel de agarosa previamente teñido con Bromuro de etidio<sup>(89)</sup>. (*Figura 14*)

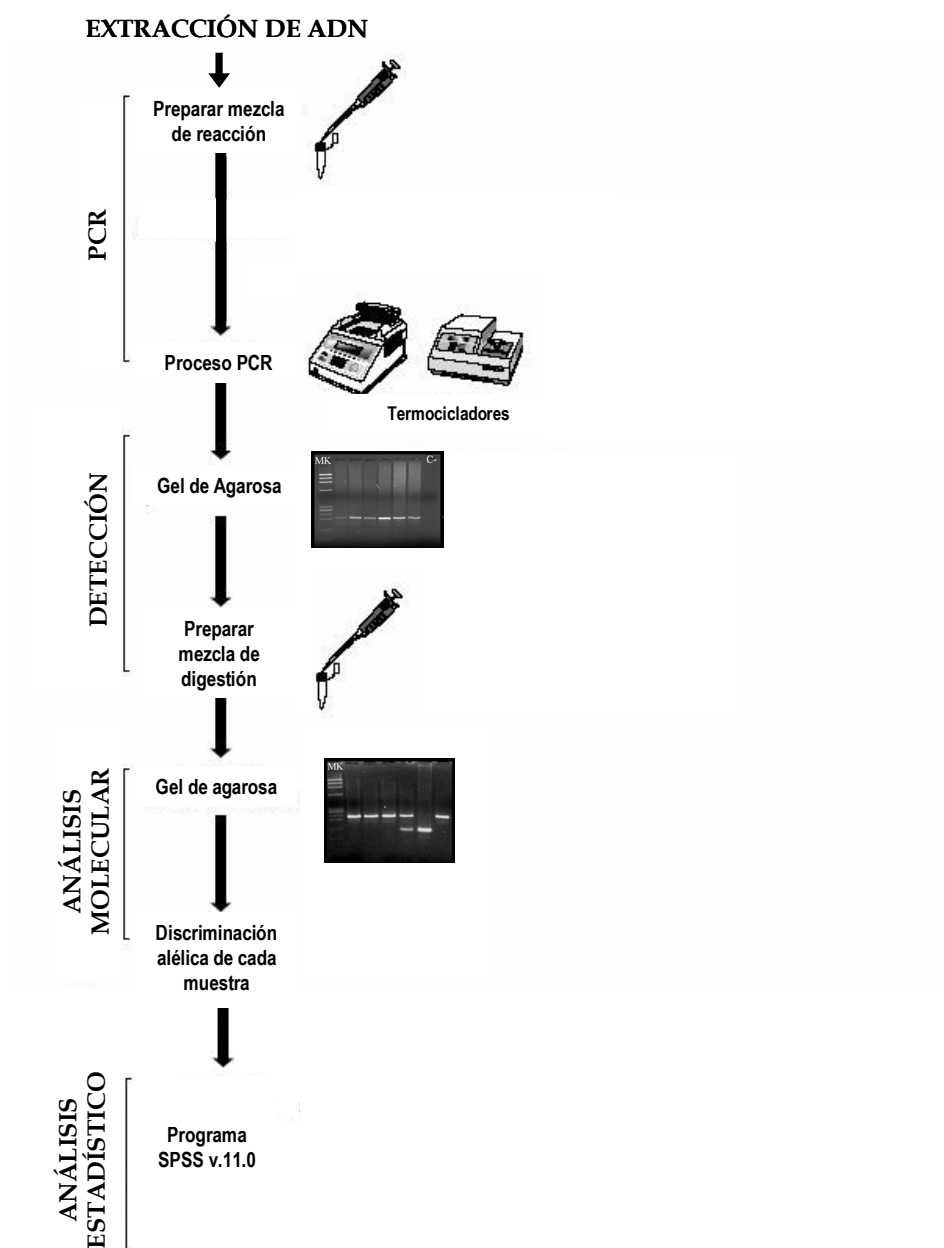


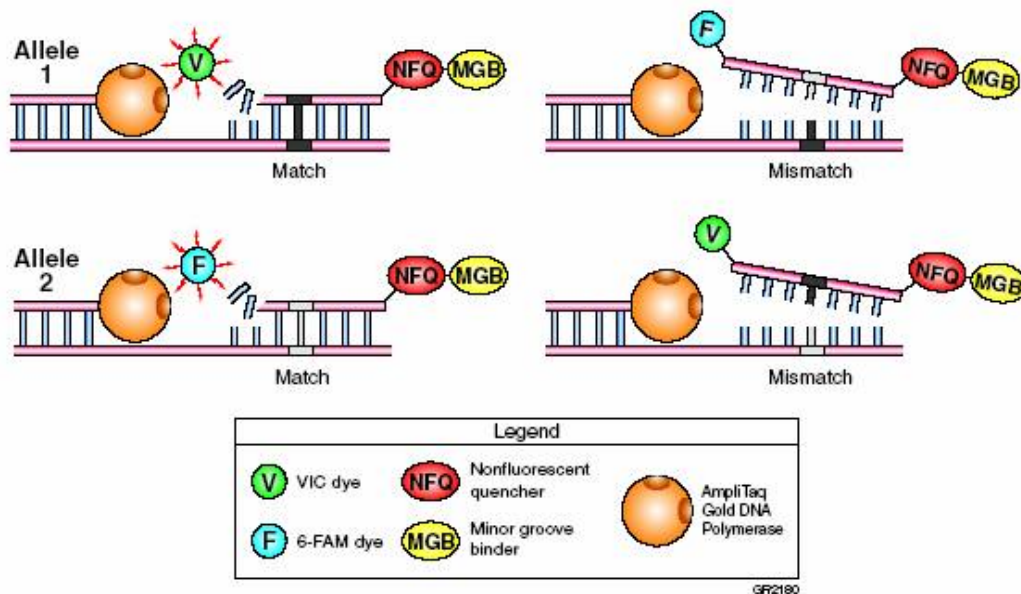
Figura 14. Discriminación alélica mediante digestión con enzimas de restricción<sup>(89)</sup>.

### **3.4 DISCRIMINACIÓN ALÉLICA MEDIANTE PCR CON SONDAS TAQMAN**

En la PCR con sondas Taqman, los procesos de amplificación y detección se producen de manera simultánea en el mismo vial cerrado, sin necesidad de ninguna acción posterior. Además, mediante detección por fluorescencia se puede medir durante la amplificación la cantidad de ADN sintetizado en cada momento, ya que la emisión de fluorescencia producida en la reacción es proporcional a la cantidad de ADN formado. Esto permite conocer y registrar en todo momento la cinética de la reacción de amplificación<sup>1</sup>. Los termocicladores para llevar a cabo la PCR con sondas Taqman incorporan un lector de fluorescencia y están diseñados para poder medir, en cualquier momento, la fluorescencia emitida en cada uno de los viales donde se realice la amplificación. Los sistemas de detección por fluorescencia empleados en la PCR con sondas Taqman pueden ser de dos tipos: agentes intercalantes y sondas específicas marcadas con fluorocromos.

Para la discriminación alélica nosotros hemos empleado sondas específicas marcadas con fluorocromos. Estas sondas de hibridación específica son oligonucleótidos marcados con un fluorocromo donador en el extremo 5' que emite fluorescencia al ser excitado y un aceptor en el extremo 3' que absorbe la fluorescencia liberada por el donador. Para que esto ocurra, las moléculas donadora y aceptora deben estar espacialmente próximas. Además, el espectro de emisión de la primera se ha de solapar con el espectro de absorción de la segunda. En todos nuestros ensayos de discriminación alélica mediante PCR con sondas Taqman los fluorocromos empleados fueron VIC y FAM<sup>(90-91)</sup>.

Mientras la sonda está intacta, la fluorescencia emitida por el donador es absorbida por el aceptor. Sin embargo, durante la amplificación del ADN diana, la sonda se hibrida con su cadena complementaria. Al desplazarse a lo largo de la cadena, en su acción de síntesis, la ADN polimerasa de *Thermus aquaticus*, que tiene actividad 5' exonucleasa, hidroliza el extremo libre 5' de la sonda, produciéndose la liberación del fluorocromo donador. Como donador y aceptor están, ahora, espacialmente alejados, la fluorescencia emitida por el primero es captada por el lector<sup>(90-91)</sup> (Figura 15).

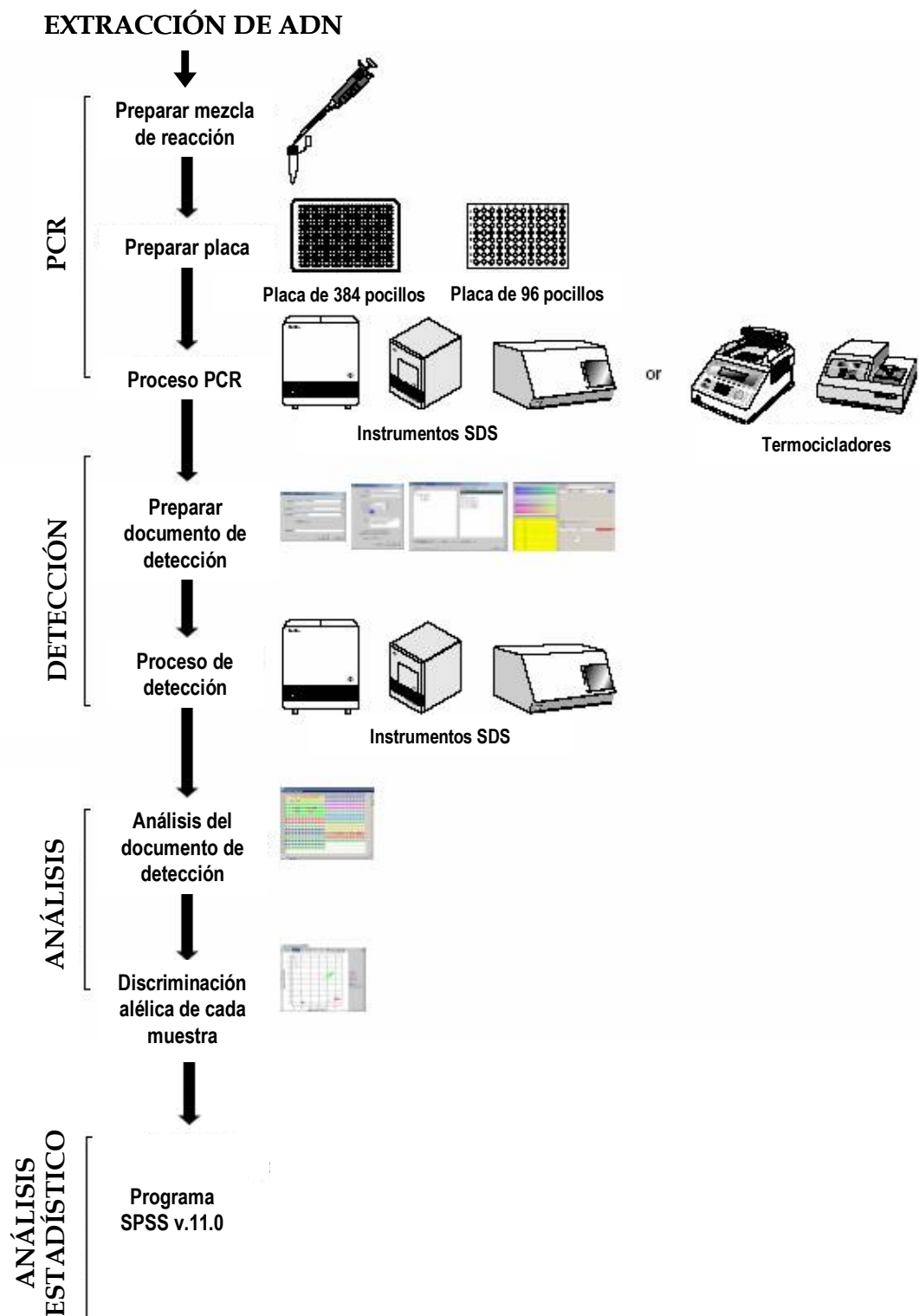


**Figura15.** Mecanismo de la PCR con sondas Taqman.<sup>(90-91)</sup>

El incremento de ADN en cada ciclo se corresponde con un aumento de hibridación de las sondas, lo que conlleva un aumento en la misma proporción de

fluorescencia emitida. El empleo de estas sondas garantiza la especificidad de la detección y permite identificar polimorfismos o mutaciones puntuales.

Nuestro estudio se realizó en un termociclador de Applied Biosystems 7000 que dispone de varios canales de lectura y permite detectar la emisión de distintos fluorocromos a la vez. De esa manera, se pueden usar varias sondas marcadas con distintos fluorocromos, para identificar los diferentes alelos descritos en cada uno de los genes estudiados<sup>(90-91)</sup>. (*Figura 16*).



*Figura 16. Discriminación alélica mediante PCR con sondas Taqman<sup>(90-91)</sup>.*



### 3.5.- ANÁLISIS DEL POLIMORFISMO Glu298Asp DEL GEN NOS3

---

El polimorfismo 894G>T supone un cambio en la secuencia de aminoácidos Glu298Asp en la proteína eNOS codificada por el gen NOS3, se estudió mediante PCR con los cebadores:

✂ 5' AACCCCCTCTGGCCCACTCCC3' (sentido)

✂ 5' TCCATCCCACCCAGTCAAT 3' (antisentido)

Las condiciones de la PCR fueron: desnaturalización: 95° 5 minutos, (1 ciclo). Desnaturalización: 95° 1 minuto; anillamiento: 60° 1 minuto; extensión: 72° 1 minuto. Durante 30 ciclos y un último ciclo de 72° durante 7 minutos.

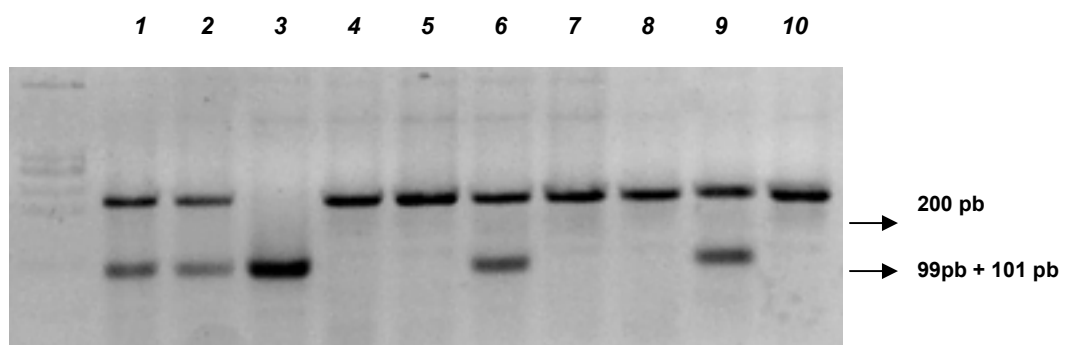
Se amplificó un fragmento de 200 pb que fue digerido con la endonucleasa de restricción MboI generando dos fragmentos de 101 y 99 pb cuando existía el alelo Asp.

Los genotipos que se determinaron en el análisis de este polimorfismo fueron:  
(Figura 17)

✂ Genotipo GG: un fragmento de 200 pb

✂ Genotipo TT: dos fragmentos de 99pb y 101pb.

✂ Genotipo GT: tres fragmentos de 200pb, 99pb y 101pb

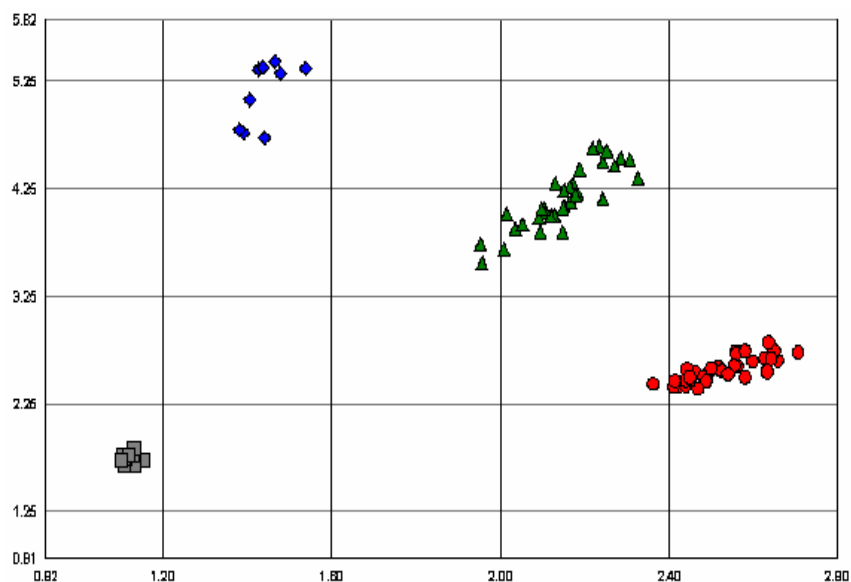


**Figura 17.-** Separación en gel de agarosa de los fragmentos resultantes de digestión con MboI del gen NOS3 amplificado mediante PCR. Los carriles 1, 2, 6, y 9 muestran individuos heterocigotos GT, los carriles 4, 5, 7, 8, y 10 muestran individuos homocigotos GG, y el carril 3 muestra un homocigoto TT.

### 3.6.- ANÁLISIS DEL POLIMORFISMO Lys198Asn DEL GEN ET-1

---

El polimorfismo Lys198Asn del gen ET-1 supone un cambio en la secuencia de aminoácidos Lys198Asn en la proteína endotelina codificada por el gen ET-1. Este polimorfismo se estudió utilizando el Kit c\_598677-1 de Applied-Biosystem. El software del sistema genera una representación bidimensional de la distribución de los genotipos tal y como se muestra en la *Figura 18*.



**Figura 18.-** Representación gráfica de la amplificación de genotipos del polimorfismo ET-1 Lys198Asn. En color azul genotipo TT, en color gris controles negativos, en color rojo genotipo GG, y en color verde genotipo GT

### 3.7.- ANÁLISIS DEL POLIMORFISMO 8473C>T del gen PTGS2

---

El polimorfismo 8473C>T del gen PTGS2 se amplificó con los cebadores: (*Figura 19*)

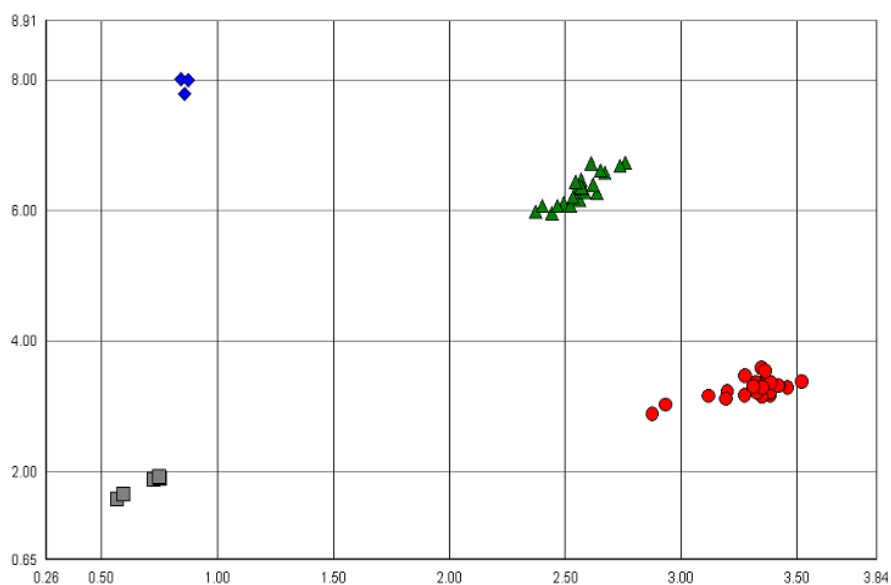
✂ 5'-ATGCACTGACCTGTTTTTGTTT-3' (sentido)

✂ 5'-GTTTCCAATGCATCTTCCATGA-3' (antisentido)

Mediante las sondas para genotipado:

✂ FAM: 5'-TGACAFAAAATGACCAAA-3'

✂ VIC: 5'-TGACAGAAAATGAAAATAACC-3'



**Figura 19.-** Representación gráfica de la amplificación de genotipos del gen PTGS2. En color azul genotipo TT, en color gris controles negativos, en color rojo genotipo CC, y en color verde genotipo TC

### 3.8.- ANÁLISIS DEL POLIMORFISMO -174G>C del gen IL-6

---

El polimorfismo del gen IL-6 se amplificó con los cebadores: (*Figura 20*)

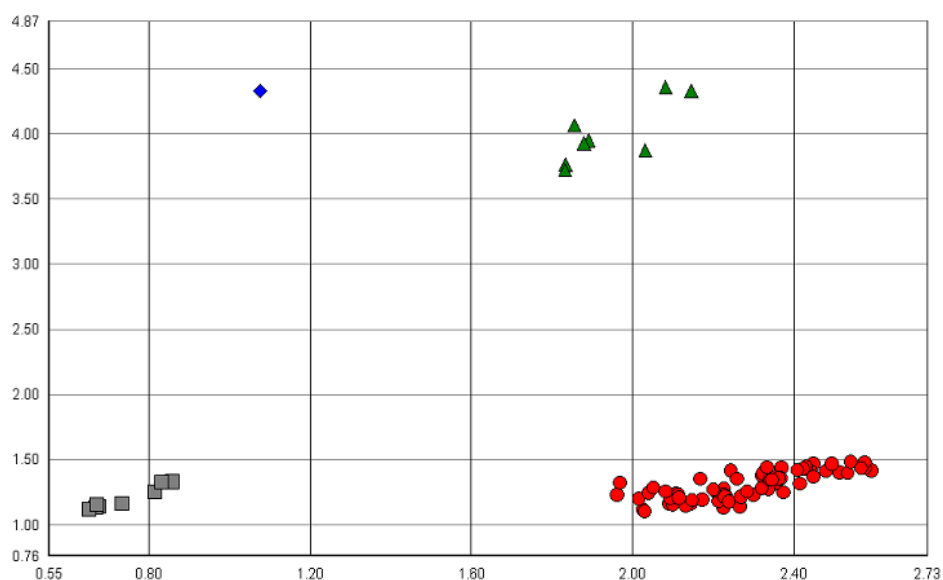
✂ 5'-TGACGACCTAAGCTGCACTTTTC-3' (sentido)

✂ 5'-GGCTGATTGGAAACCTTATTAAGA- 3' (antisentido)

Mediante las sondas para genotipado:

✂ FAM: 5'-TCTTGCCATGCTAAA-3'

✂ VIC: 5'-TCTTGCGATGCTAAA-3'



**Figura 20.-** Representación gráfica de la amplificación de genotipos del polimorfismo - 174G>C del gen IL6. En color azul genotipo GG, en color gris controles negativos, en color rojo genotipo CC, y en color verde genotipo CG

#### **4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

##### **Análisis descriptivo**

Los resultados para variables continuas fueron expresados como media  $\pm$  desviación estándar. Los resultados para variables cualitativas fueron expresados en porcentaje de frecuencias sobre el total de la muestra.

##### **Análisis univariante**

Las variables cualitativas se analizaron con el test chi cuadrado. Las variables continuas se analizaron mediante el test T-de student.

##### **Análisis Multivariante**

Las variables que alcanzaron significación estadística en el análisis univariante se analizaron posteriormente mediante regresión logística.

En todos los casos se considerará que existen diferencias estadísticamente significativas cuando se obtengan valores de  $p < 0.05$ . El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS 15.0.

#### **RESULTADOS**

##### **1. Test de Equilibrio de Hardy-Weinberg**

Se realizó el test de equilibrio de Hardy-Weinberg en las poblaciones incluidas en el estudio de los polimorfismos 894G>T del gen NOS3, Lys198Asn del gen ET-1, 8473C>T del gen PTGS2 y -174G>C del gen IL-6 y no se hallaron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ), por lo que deducimos que no hay evidencias de desequilibrio entre los grupos a estudio <sup>(87)</sup>.

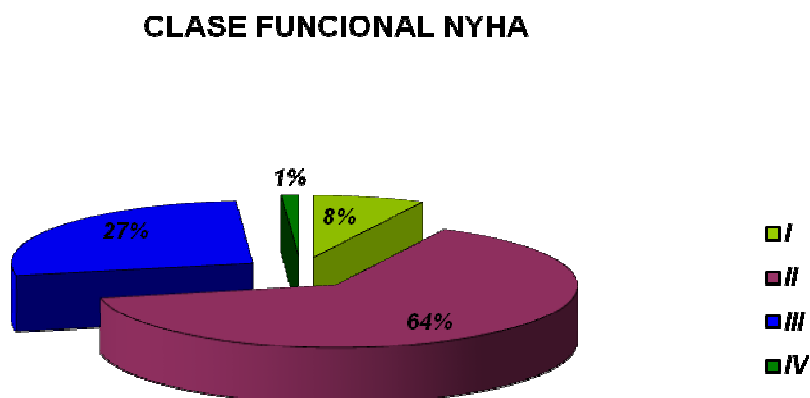
## **2. Descripción de la población en estudio**

Las características clínicas y demográficas de la población de estudio se muestran en la *tabla 4*.

*Tabla 4 Características clínicas y demográficas*

<b>CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y DEMOGRÁFICAS DE LA POBLACION ESTUDIADA</b>	<b>%</b>	<b>X ±DS</b>
EDAD		73,4± 9,8
EDAD VARONES		71±3
EDAD MUJERES		77±6
EDAD > 65 años	83,2	
VARONES	59,5	
C.ISQUEMICA	42,6	
DIABETES MELLITUS	35,3	
HIPERTENSION ARTERIAL	63,7	
DILATACION VI	55,3	
FIBRILACION AURICULAR	59,5	
VALVULOPATIA	53,2	
EPOC	18,4	
FE		45± 15,4
FE < 50%	53,6	
FC (latidos por minutos)		72 ± 12

En relación con la clase funcional de los pacientes el 64% se encontraba en clase funcional II de la New York Heart Association (NYHA), el 27% en clase funcional III y el 1% en clase funcional IV. El 8% de los pacientes se encontraba asintomático en el momento de la visita (*Figura 21*).



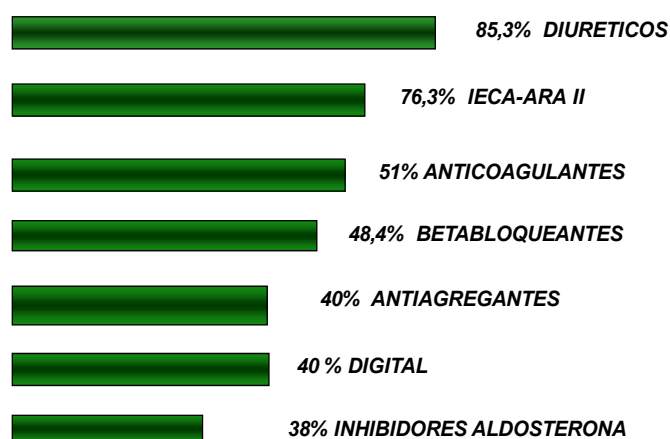
*Figura 21. Distribución de los pacientes según su clase funcional*

Los datos de laboratorios recogidos se describen en la tabla 5, donde se muestran los valores máximos, mínimos y media con desviación estándar.

*Tabla 5. Descripción de los datos de laboratorio recogidos*

<b>PARAMETROS ANALÍTICOS</b>	VALOR MINIMO	VALOR MÁXIMO	<b>X <math>\pm</math> DS</b>
SODIO( mmol/L)	124	152	<b>139<math>\pm</math>8</b>
POTASIO( mmol/L)	3,1	5,9	<b>4,3<math>\pm</math>0,5</b>
CREATININA (mg/dl)	0,6	2,8	<b>1 <math>\pm</math> 0,4</b>
HEMOGLOBINA (g/dl)	7,9	16,9	<b>13,1<math>\pm</math>1,9</b>

En relación con el tratamiento recibido (*Figura 22*), el 76,3% de los pacientes estaba bajo tratamiento con IECA o ARA II y sólo el 48,4% estaba bajo tratamiento con betabloqueantes. El 38% en tratamiento con inhibidores de la aldosterona. El 85,3% en tratamiento con diuréticos. El 40% bajo tratamiento con digital. El 40% en tratamiento con AAS, el 51% con anticoagulantes, el 37,7% en tratamiento con estatinas, el 16,3% con ADO, el 15,6% con insulina, el 13,2% con amiodarona, el 9,2% con hierro, el 1% con EPO



**Figura 22.** Tratamientos recibidos.



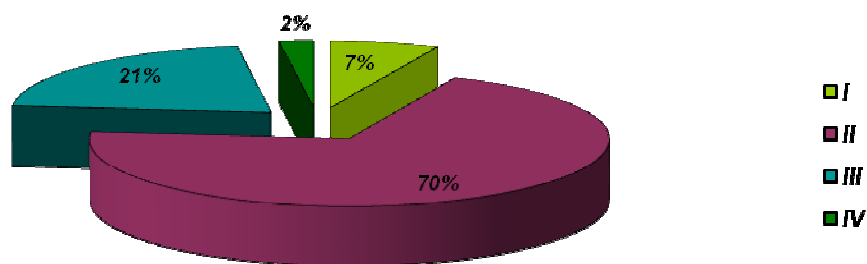
Al comparar los datos distribuyéndolos según presenten o no disfunción sistólica, obtuvimos los siguientes datos (*Tabla 6*):

**Tabla 6.** Distribución de las características clínicas de los pacientes según el tipo de disfunción ventricular predominante.

<b>CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y DEMOGRÁFICAS DE LA POBLACIÓN ESTUDIADA</b>	<b>FE ≥ 50% (%)</b>	<b>FE &lt; 50% (%)</b>	<b>P</b>
EDAD (media)	<b>75,76</b>	<b>71,45</b>	<b>0,09</b>
EDAD > 65 años	<b>89,8</b>	<b>77,5</b>	<b>0,024</b>
VARONES	<b>44,4</b>	<b>72,5</b>	<b>0,00</b>
C.ISQUEMICA	37,5	47,1	0,18
HTA	<b>71,6</b>	<b>56,9</b>	<b>0,03</b>
DIABETES MELLITUS	34,1	36,3	0,75
VALVULOPATIA	48	59	0,13
EPOC	17,8	19,3	0,8
FA	<b>69</b>	<b>52</b>	<b>0,01</b>
DILATACION VI	<b>15,9</b>	<b>89,2</b>	<b>0,00</b>
INFARTO MIOCARDIO	<b>20,5</b>	<b>34,3</b>	<b>0,03</b>
HEMOGLOBINA < 13 mg/dl	<b>50,7</b>	<b>30,8</b>	<b>0,01</b>

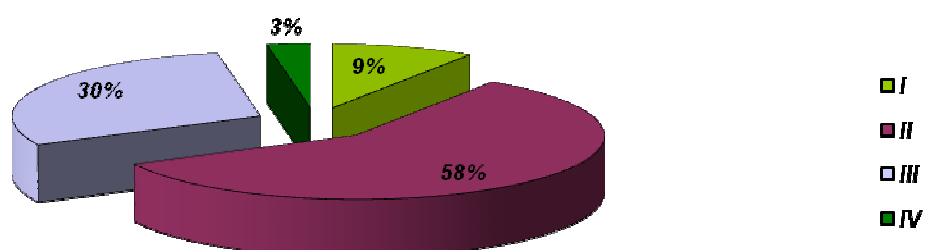
La clase funcional de los pacientes con disfunción sistólica y diastólica se muestra en las *figuras 23 y 24*. No se encontraron diferencias significativas ( $P > 0,05$ ).

#### CLASE FUNCIONAL NYHA EN PACIENTES CON $FE \geq 50\%$ (n =88)



*Figura 23. Distribución de la clase funcional en pacientes con función sistólica preservada*

#### CLASE FUNCIONAL NYHA EN PACIENTES CON $FE < 50\%$ (n =102)



*Figura 24. Distribución de la clase funcional en pacientes con disfunción sistólica.*

El tratamiento farmacológico según los pacientes presentasen o no disfunción sistólica se muestra en la tabla 7:

**Tabla 7.** Tratamientos recibidos según el tipo de disfunción ventricular predominante.

<b>GRUPO</b> <b>FARMACOLOGICO</b>	<b>FE <math>\geq</math> 50%</b> <b>(%)</b>	<b>FE &lt; 50%</b> <b>(%)</b>	<b>P</b>
IECA/ARA II	37,6	42,5	0,7
BETABLOQUEANTES	17,1	33,7	<b>0,00</b>
ANTIAGREGANTES	13,3	28,7	<b>0,00</b>
ESTATINAS	13,3	24,4	<b>0,01</b>
INHIBIDORES ALDOSTERONA	12,7	27,1	<b>0,00</b>
DIURÉTICOS	41,1	48,9	0,4
AMIODARONA	5	7	0,7
ANTICOAGULANTES	27	27,5	0,1

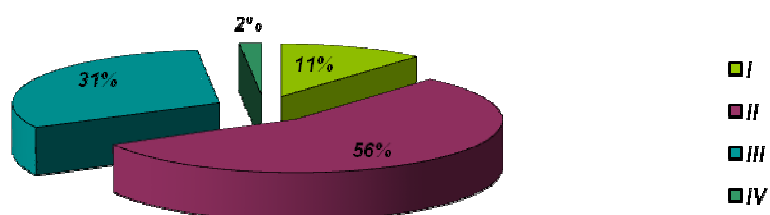
Realizamos una distribución de la muestra en dos grupos según presenten o no remodelado del VI y los resultados obtenidos se muestran en la tabla 8:

**Tabla 8.** Características clínicas según la presencia o no de remodelado ventricular

<b>CARACTERÍSTICAS</b>	<b>VI NO DILATADO (%)</b>	<b>VI DILATADO (%)</b>	<b>P</b>
EDAD (media)	75,5	71,7	0,09
EDAD > 65 años	85,9	81	0,3
VARONES	<b>41,2</b>	<b>74,3</b>	<b>0,00</b>
C.ISQUEMICA	40	44,8	0,5
INFARTO AGUDO MIOCARDIO	23,5	31,4	0,27
HTA	<b>74,1</b>	<b>55,2</b>	<b>0,00</b>
DIABETES MELLITUS	35,3	35,2	0,9
VALVULOPATIA	56,5	50,5	0,41
EPOC	17,6	19,2	0,7
FA	65,5	55,2	0,14
FE < 50%	<b>12,9</b>	<b>86,7</b>	<b>0,00</b>
FE (media)	<b>56,5</b>	<b>35,7</b>	<b>0,00</b>
FRECUENCIA CARDIACA (lpm) media	<b>74,5</b>	<b>70,8</b>	<b>0,03</b>
HEMOGLOBINA < 13 g/dl	<b>49,3</b>	<b>32,5</b>	<b>0,03</b>

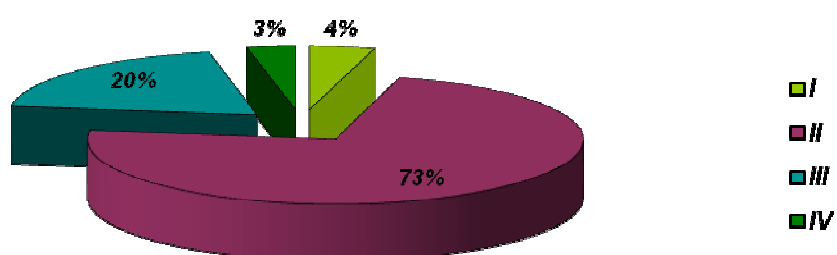
La clase funcional según los pacientes presentasen o no dilatación del ventrículo izquierdo se muestra en las *figuras 25 y 26*. No se encontraron diferencias significativas.

#### CLASE FUNCIONAL NYHA EN PACIENTES CON VI DILATADO (n=105)



*Figura 25. Distribución de la clase funcional en pacientes con dilatación de ventrículo izquierdo.*

#### CLASE FUNCIONAL NYHA EN PACIENTES CON VI NO DILATADO (n=85)



*Figura 26. Distribución de la clase funcional en pacientes con ventrículo izquierdo no dilatado.*

En relación con los tratamientos farmacológicos administrados según existiese o no remodelado ventricular los resultados se muestran en la tabla 9:

**Tabla 9.** Tratamientos recibidos según la presencia o no de dilatación ventricular izquierda.

<b>GRUPO FARMACOLOGICO</b>	<b>VI NO DILATADO (%)</b>	<b>VI DILATADO (%)</b>	<b>P</b>
IECA/ARA II	33,1	47	0,06
BETABLOQUEANTES	<b>18,2</b>	<b>32,6</b>	<b>0,01</b>
ANTIAGREGANTES	<b>18,3</b>	<b>28,2</b>	<b>0,00</b>
ESTATINAS	<b>13,9</b>	<b>23,9</b>	<b>0,08</b>
INHIBIDORES ALDOSTERONA	<b>13,8</b>	<b>26</b>	<b>0,02</b>
DIURÉTICOS	39,4	50,6	0,6
AMIODARONA	3,9	7,8	0,27
ANTICOAGULANTES	27,4	26,8	0,08

### 3. Análisis del Polimorfismo Glu298Asp del gen de la Sintasa Endotelial del Óxido Nítrico (NOS3)

#### 3.1. Análisis por genotipos

El estudio de la distribución de genotipos del gen NOS3 en relación con las variables clínicas y demográficas estudiadas no mostró ninguna diferencia significativa. Los resultados se muestran en las siguientes tablas: (tabla 10 a tabla 20)

*Tabla 10. Distribución de genotipos del polimorfismo del gen NOS según la edad (p= 0.7)*

			NOS			Total
			GG	GT	TT	
edad65	<65	Recuento	13	14	5	32
		% de edad65	40,6%	43,8%	15,6%	100,0%
	>=65	Recuento	68	61	29	158
		% de edad65	43,0%	38,6%	18,4%	100,0%
Total	Recuento		81	75	34	190
	% de edad65		42,6%	39,5%	17,9%	100,0%

*Tabla 11. Distribución de genotipos del polimorfismo del gen NOS según el sexo (p = 0.34)*

			NOS			Total
			GG	GT	TT	
sexo	mujer	Recuento	31	34	12	77
		% de sexo	40,3%	44,2%	15,6%	100,0%
	varon	Recuento	50	41	22	113
		% de sexo	44,2%	36,3%	19,5%	100,0%
Total	Recuento		81	75	34	190
	% de sexo		42,6%	39,5%	17,9%	100,0%

Tabla 12. Distribución de genotipos del polimorfismo del gen NOS según el antecedente de **cardiopatía isquémica** ( $p = 0.519$ )

			NOS			Total
			GG	GT	TT	
C.ISQ	NO	Recuento	45	47	17	109
		% de C.ISQ	41,3%	43,1%	15,6%	100,0%
	SI	Recuento	36	28	17	81
		% de C.ISQ	44,4%	34,6%	21,0%	100,0%
Total		Recuento	81	75	34	190
		% de C.ISQ	42,6%	39,5%	17,9%	100,0%

Tabla 13. Distribución de genotipos del polimorfismo del gen NOS según la presencia de **Diabetes Mellitus** ( $p = 0.831$ )

			NOS			
			GG	GT	TT	Total
DM	NO	Recuento	51	50	22	123
		% de DM	41,5%	40,7%	17,9%	100,0%
	SI	Recuento	30	25	12	67
		% de DM	44,8%	37,3%	17,9%	100,0%
Total		Recuento	81	75	34	190
		% de DM	42,6%	39,5%	17,9%	100,0%

Tabla 14. Distribución de genotipos del polimorfismo del gen NOS según la presencia de **hipertensión arterial** ( $p = 0.11$ )

			NOS			
			GG	GT	TT	Total
HTA	NO	Recuento	35	22	12	69
		% de HTA	50,7%	31,9%	17,4%	100,0%
	SI	Recuento	46	53	22	121
		% de HTA	38,0%	43,8%	18,2%	100,0%
Total		Recuento	81	75	34	190
		% de HTA	42,6%	39,5%	17,9%	100,0%



Tabla 15. Distribución de genotipos del polimorfismo del gen NOS según el **tipo de disfunción ventricular predominante** ( $p = 0.463$ )

			NOS			Total
			GG	GT	TT	
FE50	<50	Recuento	46	40	16	102
		% de FE50	45,1%	39,2%	15,7%	100,0%
	>=50	Recuento	35	35	18	88
		% de FE50	39,8%	39,8%	20,5%	100,0%
Total	Recuento		81	75	34	190
	% de FE50		42,6%	39,5%	17,9%	100,0%

Tabla 16. Distribución de genotipos del polimorfismo del gen NOS según la presencia o no de **remodelado ventricular** ( $p = 0.1$ )

			NOS			Total
			GG	GT	TT	
VI dilatado	NO	Recuento	30	40	15	85
		% de VI dilatado	35,3%	47,1%	17,6%	100,0%
	SI	Recuento	51	35	19	105
		% de VI dilatado	48,6%	33,3%	18,1%	100,0%
Total	Recuento		81	75	34	190
	% de VI dilatado		42,6%	39,5%	17,9%	100,0%

Tabla 17. Distribución de genotipos del polimorfismo del gen NOS según la presencia o no de **fibrilación auricular** ( $p = 0.7$ )

			NOS			Total
			GG	GT	TT	
fa	no	Recuento	30	29	17	76
		% de fa	39,5%	38,2%	22,4%	100,0%
	si	Recuento	51	45	17	113
		% de fa	45,1%	39,8%	15,0%	100,0%
Total	Recuento		81	74	34	189
	% de fa		42,9%	39,2%	18,0%	100,0%

Tabla 18. Distribución de genotipos del polimorfismo del gen NOS según la **clase funcional de la NYHA**  
Agrupados según fuese I-II versus III-IV ( $p = 0.168$ )

Clase Funcional NYHA		NOS			Total
		GG	GT	TT	
I-II	Recuento	54	59	23	136
	% de CF I-II vs III-IV	39,7%	43,4%	16,9%	100,0%
III-IV	Recuento	27	16	11	54
	% de CF I-II vs III-IV	50,0%	29,6%	20,4%	100,0%
Total	Recuento	81	75	34	190
	% de CF I-II vs III-IV	42,6%	39,5%	17,9%	100,0%

Tabla 19 . Distribución de genotipos del polimorfismo del gen NOS según la presencia o no de **valvulopatía significativa** ( $p = 0.338$ )

			NOS			Total
			GG	GT	TT	
valvulopatía	No Valvular	Recuento	40	35	14	89
		% de valvulopatía	44,9%	39,3%	15,7%	100,0%
	Valvular	Recuento	41	40	20	101
		% de valvulopatía	40,6%	39,6%	19,8%	100,0%
Total		Recuento	81	75	34	190
		% de valvulopatía	42,6%	39,5%	17,9%	100,0%

Tabla 20. Distribución de genotipos del polimorfismo del gen NOS según la presencia de enfermedad **pulmonar obstructiva crónica** ( $p = 0.894$ )

			NOS			Total
			GG	GT	TT	
EPOC	NO	Recuento	67	60	27	154
		% de EPOC	43,5%	39,0%	17,5%	100,0%
	SI	Recuento	14	15	6	35
		% de EPOC	40,0%	42,9%	17,1%	100,0%
Total		Recuento	81	75	33	189
		% de EPOC	42,9%	39,7%	17,5%	100,0%

Al analizar la distribución de genotipos del polimorfismo estudiado del gen NOS3 tampoco encontramos diferencias significativas en relación con los tratamientos administrados

### 3.2. Análisis por alelos

Cuando estudiamos la distribución de alelos del gen NOS3 tampoco encontramos diferencias significativas en relación con ninguna de las variables clínicas ni demográficas analizadas

## 4. Análisis del Polimorfismo Lys198Asn del gen de la Endotelina-1

### 4.1. Análisis por genotipos

El estudio de la distribución de genotipos del polimorfismo del gen de la Endotelina-1 en relación con las variables clínicas y demográficas se muestran en las siguientes tablas: (tabla 21 a tabla 31)

*Tabla 21. Distribución de genotipos del polimorfismo del gen ET-1 según la edad de los pacientes ( $p = 0.227$ )*

			ET-1			Total
			GG	GT	TT	
edad65	<65	Recuento	23	9	0	32
		% de edad65	71,9%	28,1%	,0%	100,0%
	>=65	Recuento	107	40	11	158
		% de edad65	67,7%	25,3%	7,0%	100,0%
Total	Recuento		130	49	11	190
	% de edad65		68,4%	25,8%	5,8%	100,0%

Tabla 22. Distribución de genotipos del polimorfismo del gen ET-1 según el sexo de los pacientes  
( $p = 0.1$ )

			ET-1			Total
			GG	GT	TT	
sexo	mujer	Recuento	56	15	6	77
		% de sexo	72,7%	19,5%	7,8%	100,0%
	varon	Recuento	74	34	5	113
		% de sexo	65,5%	30,1%	4,4%	100,0%
Total		Recuento	130	49	11	190
		% de sexo	68,4%	25,8%	5,8%	100,0%

Tabla 23. Distribución de genotipos del polimorfismo del gen ET-1 según el antecedente de cardiopatía isquémica ( $p = 0.721$ )

			ET-1			Total
			GG	GT	TT	
C.ISQ	NO	Recuento	75	28	6	109
		% de C.ISQ	68,8%	25,7%	5,5%	100,0%
	SI	Recuento	55	21	5	81
		% de C.ISQ	67,9%	25,9%	6,2%	100,0%
Total		Recuento	130	49	11	190
		% de C.ISQ	68,4%	25,8%	5,8%	100,0%

Tabla 24. Distribución de genotipos del polimorfismo del gen ET-1 según el antecedente de diabetes mellitus ( $p = 0.577$ )

			ET-1			Total
			GG	GT	TT	
DM	NO	Recuento	82	32	9	123
		% de DM	66,7%	26,0%	7,3%	100,0%
	SI	Recuento	48	17	2	67
		% de DM	71,6%	25,4%	3,0%	100,0%
Total		Recuento	130	49	11	190
		% de DM	68,4%	25,8%	5,8%	100,0%

Tabla 25. Distribución de genotipos del polimorfismo del gen ET-1 según el antecedente de hipertensión arterial (**p = 0.03**)

			ET-1			Total
			GG	GT	TT	
HTA	NO	Recuento	45	16	8	69
		% de HTA	65,2%	23,2%	11,6%	100,0%
	SI	Recuento	85	33	3	121
		% de HTA	70,2%	27,3%	2,5%	100,0%
Total		Recuento	130	49	11	190
		% de HTA	68,4%	25,8%	5,8%	100,0%

Tabla 26. Distribución de genotipos del polimorfismo del gen ET-1 según el tipo de disfunción ventricular predominante ( $p = 0.237$ )

FRACCION DE EYECCIÓN (%)			ET-1			Total
			GG	GT	TT	
<50		Recuento	66	28	8	102
		% de FE50	64,7%	27,5%	7,8%	100,0%
>=50		Recuento	64	21	3	88
		% de FE50	72,7%	23,9%	3,4%	100,0%
Total		Recuento	130	49	11	190
		% de FE50	68,4%	25,8%	5,8%	100,0%

Tabla 27. Distribución de genotipos del polimorfismo del gen ET-1 según la presencia o no de remodelado ventricular (**p = 0.02**)

VI dilatado			ET-1			Total
			GG	GT	TT	
NO		Recuento	67	15	3	85
		% de VI dilatado	78,8%	17,6%	3,5%	100,0%
SI		Recuento	63	34	8	105
		% de VI dilatado	60,0%	32,4%	7,6%	100,0%
Total		Recuento	130	49	11	190
		% de VI dilatado	68,4%	25,8%	5,8%	100,0%

Tabla 28. Distribución de genotipos del polimorfismo del gen ET-1 según el antecedente de fibrilación auricular ( $p = 0.231$ )

FIBRILACION AURICULAR		ET-1			Total
		GG	GT	TT	
no	Recuento	57	16	3	76
	% de fa	75,0%	21,1%	3,9%	100,0%
si	Recuento	73	32	8	113
	% de fa	64,6%	28,3%	7,1%	100,0%
Total	Recuento	130	48	11	189
	% de fa	68,8%	25,4%	5,8%	100,0%

Tabla 29. Distribución de genotipos del polimorfismo del gen ET-1 según la clase funcional de la NYHA agrupados según fuese I-II versus III-IV ( $p = 0.532$ )

CLASE FUNCIONAL NYHA		ET-1			Total
		GG	GT	TT	
I-II	Recuento	92	35	9	136
	% de CF I-II vs III-IV	67,6%	25,7%	6,6%	100,0%
III-IV	Recuento	38	14	2	54
	% de CF I-II vs III-IV	70,4%	25,9%	3,7%	100,0%
Total	Recuento	130	49	11	190
	% de CF I-II vs III-IV	68,4%	25,8%	5,8%	100,0%

Tabla 30. Distribución de genotipos del polimorfismo del gen ET-1 según la presencia o no de valvulopatía significativa ( $p = 0.538$ )

VALVULOPATIA		ET-1			Total
		GG	GT	TT	
NO	Recuento	59	25	5	89
	% de valvulopatía	66,3%	28,1%	5,6%	100,0%
SI	Recuento	71	24	6	101
	% de valvulopatía	70,3%	23,8%	5,9%	100,0%
Total	Recuento	130	49	11	190
	% de valvulopatía	68,4%	25,8%	5,8%	100,0%

*Tabla 31. Distribución de genotipos del polimorfismo del gen ET-1 según la presencia o no de enfermedad pulmonar obstructiva crónica ( $p = 0.952$ )*

EPOC		ET-1			Total
		GG	GT	TT	
NO	Recuento	105	40	9	154
	% de EPOC	68,2%	26,0%	5,8%	100,0%
SI	Recuento	24	9	2	35
	% de EPOC	68,6%	25,7%	5,7%	100,0%
Total	Recuento	129	49	11	189
	% de EPOC	68,3%	25,9%	5,8%	100,0%

Al analizar la distribución de genotipos del polimorfismo del gen ET-1 en relación con los tratamientos recibidos no se encontraron diferencias significativas.

#### **4.2. Análisis por alelos**

Al realizar el análisis según los individuos fuesen portadores o no del alelo T del polimorfismo del gen de la endotelina-1 estudiado, se encontraron diferencias significativas en relación con la presencia de remodelado ventricular izquierdo (tablas 32 y 33) siendo hasta casi 2 veces más frecuente encontrar dilatación del ventrículo izquierdo en portadores del alelo T de este polimorfismo ( $p= 0,006$ ; intervalo confianza 95% 1,05 a 1,6; OR 1,9).

En relación con el resto de variables analizadas no se encontraron diferencias significativas según los individuos fuesen o no portadores del alelo T.

Tabla 32. Distribución por alelos del polimorfismo del gen ET-1 según la presencia o no de remodelado ventricular izquierdo ( $p = 0.00$ )

VI dilatado		ET-1		Total
		TT/GT	GG	
NO	Recuento	18	67	85
	% de VI dilatado	21,2%	78,8%	100,0%
SI	Recuento	42	63	105
	% de VI dilatado	40,0%	60,0%	100,0%
Total	Recuento	60	130	190
	% de VI dilatado	31,6%	68,4%	100,0%

Tabla 33. Estimación de riesgo de dilatación de VI en portadores del alelo T analizados

	Valor	Intervalo de confianza al 95%	
	Inferior	Superior	Inferior
Razón de las ventajas para VI dilatado (NO / SI)	,403	,210	,772
Para la cohorte = t o gt	,529	,330	,849
Para la cohorte = gg	1,314	1,085	1,590
N de casos válidos	190		



## **5. Análisis del Polimorfismo 8473C>T del gen de la Ciclooxygenasa-2 (PTGS2)**

### **5.1 Análisis por genotipos**

El estudio de la distribución de genotipos del polimorfismo 8473C>T del gen PTGS2 en relación con las variables clínicas y demográficas estudiadas no mostró ninguna diferencia significativa. Los resultados se muestran en las siguientes tablas: (tabla 34 a tabla 44).

*Tabla 34 . Distribución de genotipos del polimorfismo del gen PTGS2 según los individuos fuesen mayores o no de 65 años ( $p = 0.345$ )*

edad		COX2			Total
		CC	CT	TT	
<65	Recuento	18	12	2	32
	% de edad65	56,3%	37,5%	6,3%	100,0%
≥65	Recuento	64	76	18	158
	% de edad65	40,5%	48,1%	11,4%	100,0%
Total	Recuento	82	88	20	190
	% de edad65	43,2%	46,3%	10,5%	100,0%

*Tabla 35 .Distribución de genotipos del polimorfismo del gen PTGS2 según el sexo ( $p = 0.5$ )*

sexo		COX2			Total
		CC	CT	TT	
mujer	Recuento	29	40	8	77
	% de sexo	37,7%	51,9%	10,4%	100,0%
varon	Recuento	53	48	12	113
	% de sexo	46,9%	42,5%	10,6%	100,0%
Total	Recuento	82	88	20	190
	% de sexo	43,2%	46,3%	10,5%	100,0%

Tabla 36 .Distribución de genotipos del polimorfismo del gen PTGS2 según la presencia del antecedente de cardiopatía isquémica ( $p = 0.5$ )

CARDIOPATIA ISQUEMICA		COX2			Total
		CC	CT	TT	
NO	Recuento	51	46	12	109
	% de C.ISQ	46,8%	42,2%	11,0%	100,0%
SI	Recuento	31	42	8	81
	% de C.ISQ	38,3%	51,9%	9,9%	100,0%
Total	Recuento	82	88	20	190
	% de C.ISQ	43,2%	46,3%	10,5%	100,0%

Tabla 37 . Distribución de genotipos del polimorfismo del gen PTGS2 según la presencia de Diabetes Mellitus ( $p = 0.238$ )

DM		COX2			Total
		CC	CT	TT	
NO	Recuento	54	59	10	123
	% de DM	43,9%	48,0%	8,1%	100,0%
SI	Recuento	28	29	10	67
	% de DM	41,8%	43,3%	14,9%	100,0%
Total	Recuento	82	88	20	190
	% de DM	43,2%	46,3%	10,5%	100,0%

Tabla 38. Distribución de genotipos del polimorfismo del gen PTGS2 según la presencia de hipertensión arterial ( $p = 0.77$ )

HTA		COX2			Total
		CC	CT	TT	
NO	Recuento	29	35	5	69
	% de HTA	42,0%	50,7%	7,2%	100,0%
SI	Recuento	53	53	15	121
	% de HTA	43,8%	43,8%	12,4%	100,0%
Total	Recuento	82	88	20	190
	% de HTA	43,2%	46,3%	10,5%	100,0%

Tabla 39 .Distribución de genotipos del polimorfismo del gen PTGS2 según el tipo de disfunción ventricular predominante ( $p = 0.741$ )

FRACCION EYECCIÓN %		COX2			Total
		CC	CT	TT	
<50	Recuento	42	50	10	102
	% de FE50	41,2%	49,0%	9,8%	100,0%
≥50	Recuento	40	38	10	88
	% de FE50	45,5%	43,2%	11,4%	100,0%
Total	Recuento	82	88	20	190
	% de FE50	43,2%	46,3%	10,5%	100,0%

Tabla 40. Distribución de genotipos del polimorfismo del gen PTGS2 según la presencia o no de remodelado ventricular izquierdo ( $p = 0.548$ )

VI dilatado			COX2			Total
			CC	CT	TT	
NO	Recuento		34	41	10	85
	% de VI dilatado		40,0%	48,2%	11,8%	100,0%
SI	Recuento		48	47	10	105
	% de VI dilatado		45,7%	44,8%	9,5%	100,0%
Total	Recuento		82	88	20	190
	% de VI dilatado		43,2%	46,3%	10,5%	100,0%

Tabla 41. Distribución de genotipos del polimorfismo del gen PTGS2 según la presencia o no de fibrilación auricular ( $p = 0.4$ )

FIBRILACION AURICULAR		COX2			Total
		CC	CT	TT	
no	Recuento	35	32	9	76
	% de fa	46,1%	42,1%	11,8%	100,0%
si	Recuento	46	56	11	113
	% de fa	40,7%	49,6%	9,7%	100,0%
Total	Recuento	81	88	20	189
	% de fa	42,9%	46,6%	10,6%	100,0%

Tabla 42. Distribución de genotipos del polimorfismo del gen PTGS2 según la clase funcional de la NYHA agrupados según fuese I-II versus III-IV ( $p = 0.6$ )

CLASE FUNCIONAL		COX2			Total
		CC	CT	TT	
I-II	Recuento	55	66	15	136
	% de CF I-II vs III-IV	40,4%	48,5%	11,0%	100,0%
III-IV	Recuento	27	22	5	54
	% de CF I-II vs III-IV	50,0%	40,7%	9,3%	100,0%
Total	Recuento	82	88	20	190
	% de CF I-II vs III-IV	43,2%	46,3%	10,5%	100,0%

Tabla 43. Distribución de genotipos del polimorfismo del gen PTGS2 según la presencia o no de valvulopatía significativa ( $p= 0,366$ )

VALVULOPATIA			COX2			Total
			CC	CT	TT	
NO	Recuento		43	36	10	89
	% de valvulopatía		48,3%	40,4%	11,2%	100,0%
SI	Recuento		39	52	10	101
	% de valvulopatía		38,6%	51,5%	9,9%	100,0%
Total	Recuento		82	88	20	190
	% de valvulopatía		43,2%	46,3%	10,5%	100,0%

Tabla 44. Distribución de genotipos del polimorfismo del gen PTGS2 según la presencia o no de enfermedad pulmonar obstructiva crónica ( $p= 0,679$ )

EPOC			COX2			Total
			CC	CT	TT	
NO	Recuento		68	69	17	154
	% de EPOC		44,2%	44,8%	11,0%	100,0%
SI	Recuento		14	18	3	35
	% de EPOC		40,0%	51,4%	8,6%	100,0%
Total	Recuento		82	87	20	189
	% de EPOC		43,4%	46,0%	10,6%	100,0%

Cuando estudiamos la distribución de los genotipos del polimorfismo estudiado del gen PTGS2 en relación con los tratamientos recibidos, no se encontraron diferencias significativas.

## 5.2. Análisis por alelos

Cuando estudiamos la distribución de alelos del gen PTGS2 no encontramos diferencias significativas en relación con ninguna de las variables clínicas ni demográficas analizadas

## **6. Análisis del Polimorfismo -174G>C del gen de la Interleucina-6 (IL-6)**

### 6.1 Análisis por genotipos

El estudio de la distribución de genotipos del polimorfismo -174G>C del gen de la Interleucina-6 en relación con las variables clínicas y demográficas se muestran en las siguientes tablas: (tabla 45 a tabla 55)

*Tabla 45 .Distribución de genotipos del polimorfismo del gen IL-6 según los individuos fuesen mayores o no de 65 años (p= 0,378)*

EDAD		IL6			Total
		GG	GC	CC	
<65	Recuento	19	11	2	32
	% de edad65	59,4%	34,4%	6,3%	100,0%
≥65	Recuento	72	68	18	158
	% de edad65	45,6%	43,0%	11,4%	100,0%
Total	Recuento	91	79	20	190
	% de edad65	47,9%	41,6%	10,5%	100,0%

Tabla 46 . Distribución de genotipos del polimorfismo del gen IL-6 según el sexo ( $p= 0,901$ )

sexo		IL6			Total
		GG	GC	CC	
mujer	Recuento	35	33	9	77
	% de sexo	45,5%	42,9%	11,7%	100,0%
varon	Recuento	56	46	11	113
	% de sexo	49,6%	40,7%	9,7%	100,0%
Total	Recuento	91	79	20	190
	% de sexo	47,9%	41,6%	10,5%	100,0%

Tabla 47. Distribución de genotipos del polimorfismo del gen IL-6 según la presencia o no de cardiopatía isquémica ( $p= 0,56$ )

C. ISQUEMICA		IL6			Total
		GG	GC	CC	
NO	Recuento	55	41	13	109
	% de C.ISQ	50,5%	37,6%	11,9%	100,0%
SI	Recuento	36	38	7	81
	% de C.ISQ	44,4%	46,9%	8,6%	100,0%
Total	Recuento	91	79	20	190
	% de C.ISQ	47,9%	41,6%	10,5%	100,0%

Tabla 48. Distribución de genotipos del polimorfismo del gen IL-6 según la presencia o no de diabetes mellitus ( $p= 0,3$ )

DM		IL6			Total
		GG	GC	CC	
NO	Recuento	63	50	10	123
	% de DM	51,2%	40,7%	8,1%	100,0%
SI	Recuento	28	29	10	67
	% de DM	41,8%	43,3%	14,9%	100,0%
Total	Recuento	91	79	20	190
	% de DM	47,9%	41,6%	10,5%	100,0%

Tabla 49. Distribución de genotipos del polimorfismo del gen IL-6 según la presencia o no de hipertensión arterial ( $p= 0,96$ )

HTA		IL6			Total
		GG	GC	CC	
NO	Recuento	33	29	7	69
	% de HTA	47,8%	42,0%	10,1%	100,0%
SI	Recuento	58	50	13	121
	% de HTA	47,9%	41,3%	10,7%	100,0%
Total	Recuento	91	79	20	190
	% de HTA	47,9%	41,6%	10,5%	100,0%

Tabla 50. Distribución de genotipos del polimorfismo del gen IL-6 según el tipo de disfunción ventricular predominante ( $p= 0,323$ )

FRACCION EYECCIÓN %		IL6			Total
		GG	GC	CC	
<50	Recuento	54	40	8	102
	% de FE50	52,9%	39,2%	7,8%	100,0%
≥50	Recuento	37	39	12	88
	% de FE50	42,0%	44,3%	13,6%	100,0%
Total	Recuento	91	79	20	190
	% de FE50	47,9%	41,6%	10,5%	100,0%

Tabla 51. Distribución de genotipos del polimorfismo del gen IL-6 según la presencia o no de remodelado ventricular izquierdo ( $p= 0,747$ )

VI dilatado			IL6			Total
			GG	GC	CC	
NO	Recuento		38	38	9	85
	% de VI dilatado		44,7%	44,7%	10,6%	100,0%
SI	Recuento		53	41	11	105
	% de VI dilatado		50,5%	39,0%	10,5%	100,0%
Total	Recuento		91	79	20	190
	% de VI dilatado		47,9%	41,6%	10,5%	100,0%

Tabla 52 .Distribución de genotipos del polimorfismo del gen IL-6 según la presencia o no de fibrilación auricular ( $p= 0,03$ )

FIBRILACIÓN AURICULAR		IL6			Total
		GG	GC	CC	
No	Recuento	45	24	7	76
	% de fa	59,2%	31,6%	9,2%	100,0%
Si	Recuento	45	55	13	113
	% de fa	39,8%	48,7%	11,5%	100,0%
Total	Recuento	90	79	20	189
	% de fa	47,6%	41,8%	10,6%	100,0%

Tabla 53. Distribución de genotipos del polimorfismo del gen IL-6 según la clase funcional de la NYHA agrupados según fuese I-II versus III-IV ( $p = 0.48$ )

CLASE FUNCIONAL		IL6			Total
		GG	GC	CC	
I-II	Recuento	68	55	13	136
	% de CF I-II vs III-IV	50,0%	40,4%	9,6%	100,0%
III	Recuento	23	24	7	54
	% de CF I-II vs III-IV	42,6%	44,4%	13,0%	100,0%
Total	Recuento	91	79	20	190
	% de CF I-II vs III-IV	47,9%	41,6%	10,5%	100,0%

Tabla 54. Distribución de genotipos del polimorfismo del gen IL-6 según la presencia o no de valvulopatía significativa ( $p = 0.98$ )

Valvulopatía		IL6			Total
		GG	GC	CC	
No	Recuento	45	35	9	89
	% de valvulopatía	50,6%	39,3%	10,1%	100,0%
Si	Recuento	46	44	11	101
	% de valvulopatía	45,5%	43,6%	10,9%	100,0%
Total	Recuento	91	79	20	190
	% de valvulopatía	47,9%	41,6%	10,5%	100,0%



*Tabla 55. Distribución de genotipos del polimorfismo del gen IL-6 según la presencia o no de enfermedad pulmonar obstructiva crónica ( $p = 0.16$ )*

EPOC		IL6			Total
		GG	GC	CC	
NO	Recuento	75	66	13	154
	% de EPOC	48,7%	42,9%	8,4%	100,0%
SI	Recuento	16	12	7	35
	% de EPOC	45,7%	34,3%	20,0%	100,0%
Total	Recuento	91	78	20	189
	% de EPOC	48,1%	41,3%	10,6%	100,0%

Cuando estudiamos la distribución de los genotipos del polimorfismo estudiado del gen IL6 en relación con los tratamientos recibidos, únicamente se encontraron diferencias significativas en la toma de anticoagulantes (tabla 56)

*Tabla 56 . Distribución de genotipos del polimorfismo del gen IL-6 según recibiesen o no tratamiento con anticoagulantes*  
*( $p = 0.004$ )*

ANTICOAGULANTE		IL6			Total
		GG	GC	CC	
NO	Recuento	51	26	5	82
	% de ANTICOAG	62,2%	31,7%	6,1%	100,0%
SI	Recuento	36	48	13	97
	% de ANTICOAG	37,1%	49,5%	13,4%	100,0%
Total	Recuento	87	74	18	179
	% de ANTICOAG	48,6%	41,3%	10,1%	100,0%

## 6.2. Análisis por alelos

Al realizar el análisis según los individuos fuesen portadores o no del alelo C del polimorfismo del gen de la interleucina-6 estudiado, se encontraron diferencias significativas en relación con la presencia de fibrilación auricular (tablas 57 y 58)

siendo hasta casi 1,5 veces más frecuente la presencia de fibrilación auricular en portadores del alelo C de este polimorfismo ( $p=0,016$ ; OR 1,5).

Tabla 57. Distribución por alelos del polimorfismo del gen IL-6 según la presencia o no de fibrilación auricular ( $p=0.016$ )

FIBRILACION AURICULAR		IL6		Total
		gc o cc	gg	
no	Recuento	31	45	76
	% de fa	40,8%	59,2%	100,0%
si	Recuento	68	45	113
	% de fa	60,2%	39,8%	100,0%
Total	Recuento	99	90	189
	% de fa	52,4%	47,6%	100,0%

Tabla 58. Estimación de Riesgo

	Valor	Intervalo de confianza al 95%	
	Inferior	Superior	Inferior
Razón de las ventajas para fa (no / si)	,456	,252	,825
Para la cohorte IL6cc = gc o cc	,678	,497	,924
Para la cohorte IL6cc = gg	1,487	1,109	1,994
N de casos válidos	189		

También se encontraron diferencias significativas en relación con el tratamiento crónico con anticoagulantes (tablas 60 y 61 ) siendo hasta casi 2 veces más frecuente la toma de anticoagulantes en portadores del alelo C de este polimorfismo ( $p=0,01$ ; intervalo confianza 95% 1,1 a 2,08).

En relación con el resto de variables analizadas no se encontraron diferencias significativas según los individuos fuesen o no portadores del alelo T.

Tabla 59. Distribución por alelos del polimorfismo del gen IL-6 según el tratamiento con anticoagulantes ( $p = 0.01$ )

ANTICOAGULANTE		IL6		Total
		gc o cc	gg	
NO	Recuento	31	51	82
	% de ANTICOAG	37,8%	62,2%	100,0%
SI	Recuento	61	36	97
	% de ANTICOAG	62,9%	37,1%	100,0%
Total	Recuento	92	87	179
	% de ANTICOAG	51,4%	48,6%	100,0%

Tabla 60. Estimación de riesgo.

	Valor	Intervalo de confianza al 95%	
	Inferior	Superior	Inferior
Razón de las ventajas para ANTICOAG (NO / SI)	,359	,195	,658
Para la cohorte IL6cc = gc o cc	,601	,438	,825
Para la cohorte IL6cc = gg	1,676	1,230	2,283
N de casos válidos	179		

## 7. Análisis multivariante

Realizamos un análisis multivariante mediante regresión logística binaria para determinar, en el caso de los genotipos y alelos cuya distribución resultaba estadísticamente significativa en el análisis univariante, si eran variables predictoras independientes o bien se hallaban asociadas a otras variables como el sexo o la edad.

Así, la presencia de disfunción ventricular (Fracción de eyección < 50%), y el sexo masculino se asociaron significativamente a una mayor frecuencia de dilatación del ventrículo izquierdo en el análisis univariante.

La hipertensión arterial por el contrario se asoció de forma significativa en nuestros pacientes a la no dilatación del ventrículo izquierdo, así como a frecuencias cardíacas superiores a 70 lpm y cifras de hemoglobina superiores a 13 mg/dl.

En relación con los polimorfismos estudiados, la presencia del alelo T del polimorfismo Lys198Asn del gen de la endotelina-1 mostró una clara asociación con la dilatación del ventrículo izquierdo.

Realizamos un análisis de regresión logística binaria incluyendo estas seis variables, Tabla 61.

*Tabla 61. Análisis de regresión logística binaria.  
Variable dependiente: Dilatación del ventrículo izquierdo*

	Significación	ODD Ratio	I.C. 95,0% para EXP(B)	
			Inferior	Superior
ET-1 (alelo T)	<b>,009</b>	<b>4,267</b>	<b>1,446</b>	<b>12,594</b>
Sexo Varon	<b>,036</b>	<b>2,814</b>	<b>1,068</b>	<b>7,420</b>
HTA	,201	,502	,174	1,445
FE < 50%	<b>,000</b>	<b>34,295</b>	<b>11,968</b>	<b>98,275</b>
FC > 70 lpm	,164	,497	,185	1,331
Hb >13 g/dl	,837	,904	,345	2,367
Constante	,008	,160		

Al analizar los resultados obtenidos en el análisis del polimorfismo estudiado del gen de la interleucina 6, observamos una clara asociación del alelo C con la presencia de fibrilación auricular, por lo que decidimos, realizar un análisis más completo.

Para ello realizamos inicialmente un análisis univariante, cuyos resultados se muestran en la tabla 62.

<b>CARACTERÍSTICAS</b>	<b>FIBRILACIÓN AURICULAR</b>		<b>P</b>
EDAD (<65 / ≥ 65) %	<b>10,6</b>	<b>89,4</b>	<b>0,00</b>
FRACCIÓN DE EYECCIÓN (< 50 / ≥50) %	<b>46,9</b>	<b>53,1</b>	<b>0,00</b>
VALVULOPATÍA (NO/SI) %	<b>39,8</b>	<b>60,2</b>	<b>0,01</b>
POLIMORFISMO IL6 (GG/CC-GC) %	<b>39,8</b>	<b>60,2</b>	<b>0,00</b>

Al igual que en el caso de la dilatación del ventrículo izquierdo, realizamos un análisis multivariante de regresión logística binaria en el que incluimos todas las variables significativas en el análisis univariante, Tabla 63.

*Tabla 63. Análisis de regresión logística binaria.  
Variable dependiente: Fibrilación auricular*

	Significación	ODD Ratio	I.C. 95,0% para EXP(B)	
			Inferior	Superior
Edad > 65	<b>,019</b>	<b>2,680</b>	<b>1,173</b>	<b>6,126</b>
FE<50%	,119	1,649	,879	3,097
Valvulopatía	<b>,026</b>	<b>2,027</b>	<b>1,090</b>	<b>3,770</b>
IL6 Alelo C	<b>,034</b>	<b>1,953</b>	<b>1,052</b>	<b>3,626</b>
Constante	,003	,262		

## DISCUSIÓN

### **1. Análisis de las características clínicas y demográficas de la muestra estudiada:**

En relación con los datos analizados, podemos observar que la edad media de nuestra muestra es de 73,4 años y que el 59,5% de los pacientes estudiados son varones, si bien, al analizar la edad por sexos, las mujeres presentan una edad media superior a la de los varones (77 años vs 71 años) (Tabla 4). Estos resultados pueden explicarse, al igual que en estudios previos, por una mayor esperanza de vida de las mujeres y por el envejecimiento de la población.

El 46,7% de los pacientes presentan una función sistólica preservada (Tabla 4), dato concordante con los estudios revisados, que afirman que la mitad de los casos de insuficiencia cardíaca presentan una función sistólica normal o muy levemente disminuida<sup>(19;25;27)</sup>.

En relación con los antecedentes clínicos, el 63,7% de los pacientes presentaban hipertensión arterial y el 42,6% antecedentes de enfermedad coronaria (Tabla 4), datos ligeramente inferiores a los comunicados en los estudios EPISERVE y PRICE<sup>(48;50)</sup>. Sin embargo, encontramos datos muy similares en cuanto a la presencia de diabetes mellitus que supone el 35,3% de los pacientes analizados.

El 59,5% de los pacientes presenta antecedentes de fibrilación auricular de los cuales en el 44% es crónica y en el 16 % es paroxística (Tabla 4). Una vez más, estos datos son concordantes con los comunicados previamente<sup>(48;50)</sup>, y nos plantean la importancia de esta arritmia en el contexto de la insuficiencia cardíaca.

Al analizar la clase funcional de nuestros pacientes, más de la mitad (el 64,2%) se encontraban en clase funcional II de la NYHA y la cuarta parte en clase funcional III (Figura 21).

En relación con los tratamientos recibidos y a pesar de las evidencias científicas, sólo el 48,4% de los pacientes de este estudio estaban bajo tratamiento betabloqueante y el 76,3% bajo tratamiento con IECAs o ARA II (Figura 22), lo cual, mejora notablemente los datos comunicados en España en 2003<sup>(49)</sup>. Esto podría tener su explicación, al igual que el estudio EPISERVE, en que los pacientes incluidos en nuestro estudio han sido tratados por especialistas en cardiología.

## **2. Análisis de las características clínicas y demográficas de la muestra según el tipo de disfunción ventricular predominante:**

Al analizar las características de los pacientes según la fracción de eyección, cabe destacar que la disfunción ventricular sistólica ( $FE < 50\%$ ) es significativamente más frecuente en varones con una edad media de 71 años (Tabla 6). Por el contrario, la función sistólica ventricular conservada es más frecuente en mujeres, datos que también concuerdan con los obtenidos en otros estudios<sup>(16;27;46;47)</sup>.

Los pacientes con disfunción sistólica presentan con mayor frecuencia dilatación del ventrículo izquierdo (89,2% vs 5,9%). Esto puede explicarse en parte, porque también es más frecuente el antecedente de infarto agudo de miocardio en los pacientes con disfunción sistólica (18,4% vs 9,5%) y, por tanto, de remodelado ventricular izquierdo.

En cuanto a la presencia de hipertensión arterial, parece ser significativamente más frecuente en pacientes con función sistólica preservada (33,2% vs 30,5%), apoyando los resultados de estudios sobre insuficiencia cardiaca con función sistólica conservada en

los que la hipertensión arterial de larga evolución es uno de los hallazgos más frecuentes<sup>(16;27;46;47)</sup>.

En relación con la fibrilación auricular, es significativamente más frecuente en el grupo de pacientes con función sistólica preservada (69% vs 52%) y probablemente esté en relación con la mayor frecuencia de hipertensos en el grupo de función sistólica preservada.

En cuanto a la clase funcional de los pacientes, encontramos una mayor proporción de pacientes en clase funcional III y IV de la NYHA en el grupo con disfunción sistólica (33% vs 23 %, figuras 23 y 24), a pesar de lo cual no alcanza la significación estadística.

Al analizar los tratamientos recibidos según el tipo de disfunción predominante, los pacientes con disfunción sistólica recibieron más frecuentemente betabloqueantes, antiagregantes, estatinas e inhibidores de la aldosterona (tabla 7). Esto puede explicarse porque los pacientes con disfunción ventricular tienen con más frecuencia el antecedente de infarto agudo de miocardio, y tal como se ha explicado previamente presentan una peor clase funcional de la NYHA (Tabla 7).

### **3. Análisis de las características clínicas y demográficas de la muestra según la presencia de remodelado ventricular izquierdo:**

Más de la mitad de los pacientes (55,3%) presentan dilatación del ventrículo izquierdo en el ecocardiograma, siendo obviamente más frecuente en varones con disfunción sistólica (Tabla 8). Por el contrario, el antecedente de hipertensión arterial es más frecuente de manera significativa en pacientes con ventrículo izquierdo no dilatado (51,1% vs 47,9%).



En cuanto a la clase funcional, existe una mayor proporción de pacientes en clase funcional II en el grupo con ventrículo izquierdo no dilatado (73% vs 56 %, figuras 25 y 26) sin que estas diferencias alcancen la significación estadística.

Cabe destacar en relación con los signos físicos, una tendencia a una menor frecuencia cardíaca en pacientes con ventrículo izquierdo dilatado (74,5 lpm vs 70,8 lpm), esto pudo deberse, por una parte, a la mayor tasa de utilización de betabloqueantes en pacientes con ventrículo izquierdo dilatado y, por otra parte, a la mayor prevalencia de fibrilación auricular en el grupo de pacientes con fracción de eyección > 50%.

Al analizar los tratamientos recibidos según la presencia o no de remodelado ventricular, los pacientes con dilatación de ventrículo izquierdo reciben más frecuentemente betabloqueantes, antiagregantes, e inhibidores de la aldosterona (tabla 9). Esto puede estar en relación con que los pacientes con dilatación del ventrículo izquierdo presentan de forma más frecuente disfunción sistólica, antecedentes de enfermedad coronaria y, como se ha expuesto previamente, presentan una peor clase funcional de la NYHA.

#### **4. Análisis de la distribución de genotipos en relación con la función sistólica y la presencia de remodelado ventricular.**

##### **Polimorfismo Glu298Asp del gen de la Sintasa del Óxido Nítrico.**

Estudios previos han demostrado que la presencia del polimorfismo Glu298Asp del exón 7 del gen NOS3 se traduce en una menor síntesis de óxido nítrico y como consecuencia, una mayor predisposición a padecer determinadas enfermedades cardiovasculares<sup>(77;81-82)</sup>. Para analizar la posible asociación del polimorfismo del gen NOS3 con el desarrollo de disfunción ventricular y remodelado ventricular en pacientes

con insuficiencia cardíaca, hemos comparado la distribución de genotipos y alelos en el grupo de pacientes con disfunción sistólica y dilatación del ventrículo izquierdo y en el grupo de pacientes con función sistólica preservada y sin dilatación del ventrículo izquierdo.

Como mostramos en nuestros resultados (Tablas 10 a 20), al analizar la distribución de los genotipos del polimorfismo, no hemos encontrado diferencias significativas. Tampoco encontramos diferencias al realizar la comparación según los grupos determinados fueran portadores o no del alelo T.

Estos resultados discrepan con estudios previos en los que se ha demostrado la asociación del alelo T con diversos factores de riesgo cardiovascular, como la hipertensión, la enfermedad coronaria y la susceptibilidad a padecer insuficiencia cardíaca <sup>(77;81-82)</sup>. Según nuestra hipótesis inicial, la disfunción sistólica y el remodelado ventricular estaría asociado a la presencia del alelo T del polimorfismo Glu298Asp del exón 7 del gen NOS3. Estas diferencias pueden explicarse en parte, por la presencia de enfermedad cardiovascular demostrada en la totalidad de nuestra muestra, lo cual implica la existencia de disfunción endotelial en todos los individuos del estudio.

### **Polimorfismo Lys198Asn del gen de la Endotelina-1.**

Dentro de la regulación funcional del endotelio, la endotelina es el vasoconstrictor más potente, contraponiéndose a las acciones del óxido nítrico. Hasta el momento, se han realizado estudios que han relacionado polimorfismos de este gen que codifica este péptido con patologías cardiovasculares cuya base fisiopatológica es un aumento del tono vascular (hipertensión arterial y, secundariamente, patologías derivadas de la presencia de este estado patológico: cardiopatía isquémica e

insuficiencia cardiaca) <sup>(83-85;88)</sup>. Para analizar la posible asociación del polimorfismo Lys198Asn del gen de la endotelina-1 con el desarrollo de disfunción ventricular y remodelado ventricular en pacientes con insuficiencia cardiaca hemos comparado la distribución de genotipos y alelos en el grupo de pacientes con disfunción sistólica y dilatación del ventrículo izquierdo y en el grupo de pacientes con función sistólica preservada y sin dilatación del ventrículo izquierdo.

Los resultados del análisis se muestran en las tablas 21 a 31. En relación con la distribución de genotipos de este polimorfismo, cabe reseñar las diferencias encontradas en relación con la presencia o no de hipertensión arterial (Tabla 25), en las que los genotipos GG y GT son significativamente más frecuentes en el grupo de hipertensos. Estos resultados difieren de estudios anteriores, en los que se asocia el alelo T a una mayor predisposición a padecer hipertensión arterial <sup>(83-85)</sup>. Por ello, realizamos un análisis por alelos, no encontrando en este caso diferencias significativas.

Tampoco encontramos diferencias en la distribución de genotipos del polimorfismo de la endotelina-1 en relación con el tipo de disfunción ventricular predominante, y tampoco se encontró asociación en el análisis por alelos.

Al analizar la distribución de genotipos según la presencia o no de remodelado ventricular (tabla 27), comprobamos que los genotipos GT y TT son significativamente más frecuentes en el grupo de pacientes con insuficiencia cardiaca y dilatación del ventrículo izquierdo (GT: 32,4% vs 17,6%; TT 7,6% vs 3,5%). Al realizar el análisis por alelos, se mantienen estas diferencias (tablas 32 y 33), siendo hasta dos veces más frecuente la presencia del alelo T en pacientes con insuficiencia cardiaca y remodelado ventricular izquierdo (GT/TT 40% vs GG 21,2%; Razón de Riesgo 1,9). Estos resultados son concordantes con la mayoría de los hallazgos de estudios previos, en los que ser portador del alelo T se asocia a una mayor susceptibilidad de padecer

hipertensión arterial e insuficiencia cardíaca <sup>(83-86;88)</sup>, y en nuestro caso en particular podemos relacionar la presencia del alelo T con una mayor progresión del remodelado, ya que aumenta el riesgo en casi 2 veces.

Para evitar asociaciones erróneas, realizamos un análisis de regresión logística, en el que incluimos las variables que resultaron significativas en el análisis univariante (sexo varón, Fracción de eyección <50%, frecuencia cardíaca >70 lpm, hemoglobina < 13 g/dl, hipertensión arterial y presencia del alelo T del polimorfismo estudiado de la Endotelina-1 (tabla 61).

Podemos afirmar que la fracción de eyección menor del 50%, la presencia del alelo T del polimorfismo de la endotelina-1 y el sexo masculino son predictores independientes de dilatación del ventrículo izquierdo. Así, los pacientes con insuficiencia cardíaca portadores del alelo T presentan cuatro veces más riesgo de desarrollar dilatación del ventrículo izquierdo (OR 4,27. IC 95% 1,45-12,6,4) independientemente de que presente otras circunstancias clínicas.

El polimorfismo Lys 198 Asn del gen de la endotelina-1 se traduce en un cambio en el aminoácido 198 de Lysina por asparragina y, aunque no afecta a una región reguladora del gen ET-1, afecta a la codificación de pre-proendotelina-1<sup>(83-86)</sup>. En diversos estudios se ha demostrado que por sí mismo este cambio de aminoácidos no constituye ningún cambio funcional, pero cabe la posibilidad de que esté ligado a otros polimorfismos de la región reguladora del gen ET-1 que sí sean funcionales<sup>(83-86;88)</sup>. Así, en el estudio de Colombo et al, concluyen que polimorfismo Lys 198 Asn del gen ET-1 modularía al alza los efectos de la endotelina-1 afectando a la expresión de receptores ET-A<sup>(88)</sup>. En nuestro estudio, la presencia del alelo T es un claro predictor de remodelado ventricular; sin embargo, al no disponer de niveles plasmáticos de ET-1 no podemos establecer su relación funcional directa con una mayor síntesis de endotelina-

1; sí cabría especular un mayor efecto a nivel de receptores tipo A que podría estimular el proceso de remodelado ventricular izquierdo en portadores del alelo T del polimorfismo Lys 198 Asn del gen de la endotelina-1 .

### **Polimorfismo 8473C>T del gen de la Ciclooxygenasa-2.**

Las ciclooxygenasas 1 y 2 son las enzimas claves en la síntesis de prostaglandinas, que tiene un papel esencial en la inflamación. Existen múltiples estudios que han analizado la asociación de polimorfismos del gen de la ciclooxygenasa-2 con la predisposición a diversas enfermedades cardiovasculares<sup>(92-96)</sup>. Hasta el momento no existen estudios que relacionen polimorfismos de los genes que codifican la ciclooxygenasas con la insuficiencia cardiaca.

Para analizar la posible asociación del polimorfismo del gen de la ciclooxygenasa-2 con el desarrollo de disfunción ventricular y remodelado ventricular en pacientes con insuficiencia cardiaca hemos comparado la distribución de genotipos y alelos en el grupo de pacientes con disfunción sistólica y dilatación del ventrículo izquierdo y en el grupo de pacientes con función sistólica preservada y sin dilatación del ventrículo izquierdo.

El análisis de la distribución de genotipos no mostró ninguna diferencia (tablas 34 a 44). Cuando realizamos un análisis por alelos, agrupando por un lado los homocigotos para el alelo T (TT) y por otro lado los portadores del alelo C (CC+TC), tampoco encontramos diferencias entre los grupos estudiados.

#### **4.1 Polimorfismo -174G>C del gen de la Interleucina-6.**

La interleucina-6 es una citoquina proinflamatoria y polimorfismos del gen que la codifican han sido analizados para encontrar su posible asociación con diversos estados patológicos en relación con la homeostasis cardiovascular <sup>(98-103)</sup>.

Hemos analizado la asociación del polimorfismo -174G>C del gen de la Interleucina-6 con el remodelado ventricular y la disfunción ventricular en pacientes con insuficiencia cardíaca.

En las tablas 45 a 56 se muestran los resultados, en los que no se encuentran diferencias significativas en la distribución de genotipos del polimorfismo del gen de la interleucina-6 y el tipo de disfunción predominante en nuestros pacientes con insuficiencia cardíaca, así como tampoco con la dilatación del ventrículo izquierdo.

Aunque no formaba parte de los objetivos de estudio, cabe destacar la asociación que encontramos entre la distribución de genotipos del polimorfismo estudiado del gen de la interleucina-6 y la presencia de fibrilación auricular (Tabla 52), en la que los genotipos GC y CC fueron significativamente más frecuente (GC: 48,7% vs 31,6%; CC: 11,5% vs 9,2%). Al realizar el análisis por alelos (Tablas 57 y 58), encontramos que ser portador del alelo C se asocia de manera significativa a la presencia de fibrilación auricular (60,2% vs 40,2; OR 1,5).

Ante este hallazgo, decidimos realizar un análisis para determinar qué variables clínicas y demográficas se asocian de forma significativa con la presencia de fibrilación auricular en pacientes con insuficiencia cardíaca (Tabla 62). Observamos que los pacientes mayores de 65 años, los pacientes con función sistólica preservada, los pacientes con valvulopatía significativa y los portadores del alelo C del polimorfismo de

la interleucina-6 se asocian de manera significativa a la presencia de fibrilación auricular.

Para determinar qué variables son realmente predictores independientes de fibrilación auricular en pacientes con insuficiencia cardíaca realizamos un análisis multivariante de regresión logística binaria incluyendo las cuatro variables (Tabla 63). Tras este análisis podemos afirmar que los pacientes mayores de 65 años presentan dos veces mayor riesgo de presentar fibrilación auricular (OR 2,7. IC 95% 1,2-6,1). La presencia de valvulopatía significativa se asocia también con el doble de riesgo de presentar fibrilación auricular (OR 2,1, IC 95% 1,1-3,7). En relación con el perfil genético, los pacientes portadores del alelo C del polimorfismo estudiado del gen de la interleucina-6 presentan casi el doble de riesgo de presentar fibrilación auricular independientemente del resto de condiciones clínicas y patológicas (OR 1-3,6).

En relación con los tratamientos, como es lógico, los pacientes portadores del alelo C reciben con mayor frecuencia tratamiento anticoagulante, ya que de forma más frecuente presentan fibrilación auricular.

Existen estudios que relacionan las concentraciones de la interleucina-6 positivamente con el tamaño auricular y negativamente con la fracción de eyección <sup>(104)</sup>. Las concentraciones de interleucina-6 se asociaron a una mayor duración de la fibrilación auricular antes de la cardioversión. La relación entre las concentraciones de interleucina-6 con el tamaño auricular izquierdo y la duración de la FA indican que la inflamación puede participar en el proceso de remodelado auricular<sup>(104)</sup>. La relación entre los niveles circulantes de IL-6 y las variantes del polimorfismo -174G>C no es consistente, ya que en la literatura existen estudios con diferentes resultados<sup>(97)</sup>, sin embargo Gaudino et al<sup>(105)</sup> demostró una estrecha asociación entre la presencia del alelo C y la aparición de fibrilación auricular en el postoperatorio de cirugía cardíaca, así

como mayores niveles de IL-6 en plasma. En nuestro estudio no se analizaron los niveles de IL6 plasmáticos, pero los resultados concuerdan con Gaudino et al<sup>(105)</sup>, demostrando que el alelo C se asocia de forma independiente a la presencia de fibrilación auricular, pudiendo especular la influencia de este polimorfismo en la modulación de la respuesta inflamatoria y remodelado a nivel auricular.

### **LIMITACIONES DEL ESTUDIO**

1. La principal limitación del estudio es la dificultad de valorar la variable de respuesta (dilatación ventricular izquierda, fracción de eyección), al influir sobre la misma múltiples factores no sólo genéticos y poder existir interacciones entre los mismos. Sin embargo, como se puede comprobar en la literatura, este problema es común a todos los estudios sobre el tema.
2. Dadas las características intrínsecas a cualquier estudio que analice polimorfismos genéticos resulta difícil generalizar a la población global los resultados obtenidos en la muestra seleccionada.



## CONCLUSIONES

### *Con respecto al objetivo primario:*

1. Existen diferencias en la distribución de los genotipos de los genes seleccionados en este trabajo entre pacientes con insuficiencia cardiaca y ventrículo izquierdo dilatado, lo que sugiere que la evolución al remodelado ventricular podría estar, al menos en parte, condicionada a nivel genético.
2. En relación con la distribución de los genotipos de los genes seleccionados en este trabajo no existen diferencias entre pacientes con insuficiencia cardiaca con disfunción sistólica y función sistólica conservada.

### *Con respecto a los objetivos secundarios:*

1. En relación con la distribución de genotipos de los polimorfismo Glu298Asp del gen NOS3, 8473C>T del gen PTGS2, -174G>C del gen de la IL-6 y Lys198Asn del gen ET-1 no se encontraron diferencias entre pacientes con disfunción sistólica o función sistólica conservada.
2. La presencia de los genotipos GT y TT del polimorfismo Lys198Asn del gen ET-1 se asocia de forma significativa a la dilatación del ventrículo izquierdo en pacientes con insuficiencia cardiaca, siendo más frecuente la presencia del alelo T en los pacientes con dilatación del ventrículo izquierdo, por lo que podría considerarse como un marcador independiente de remodelado ventricular en pacientes con insuficiencia cardiaca.

3. A pesar de no ser objetivo del estudio, la presencia de los genotipos GC y CC del polimorfismo -174G>C del gen de la IL-6 se asocia de forma significativa a la presencia de fibrilación auricular en pacientes con insuficiencia cardíaca, siendo más frecuente la presencia del alelo C en los pacientes con fibrilación, por lo que podría considerarse como un marcador independiente de remodelado auricular en pacientes con insuficiencia cardíaca.

## BIBLIOGRAFÍA

- (1) Cleland JG, Khand A, Clark A. The heart failure epidemic: exactly how big is it? Eur Heart J 2001; 22: 623-6.
- (2) Davis RC, Hobbs FD, Lip GY. ABC of heart failure. History and epidemiology. BMJ 2000; 320: 39-42.
- (3) Garcia CA, Muñiz GJ, Sesma SP, Castro BA. Use of diagnostic and therapeutic resources in patients hospitalized for heart failure: influence of admission ward type (INCARGAL Study). Rev Esp Cardiol 2003; 56: 396-406.
- (4) Jessup M, Brozena S. Heart failure. N Engl J Med 2003; 348: 2007-2018.
- (5) Lloyd-Jones DM, Larson MG, Beiser A, Levy D. Lifetime risk of developing coronary heart disease. Lancet 1999;353: 89-92.
- (6) Muñiz J CBA. Epidemiología de la insuficiencia cardiaca en España. Manual de insuficiencia cardiaca. Publicación oficial de la "Sección de Insuficiencia Cardiaca, Trasplante y otras alternativas terapéuticas": Sociedad Española de Cardiología; 2004.
- (7) Murphy NF, Simpson CR, McAlister FA, Stewart S, MacIntyre K, Kirkpatrick M, et al. National survey of the prevalence, incidence, primary care burden, and treatment of heart failure in Scotland. Heart 2004; 90(10): 1129-1136.
- (8) Redfield MM. Heart failure: an epidemic of uncertain proportions. N Engl J Med 2002; 347: 1442-1444.

- (9) Rodriguez-Artalejo F, Banegas B, Jr., Guallar-Castillon P. Epidemiology of heart failure. *Rev Esp Cardiol* 2004;57: 163-170.
- (10) Gustafsson F, Ulriksen H, Villadsen H, Nielsen H, Andersen BB, Hildebrandt R. Prevalence and characteristics of heart failure clinics in Denmark--design of the Danish heart failure clinics network. *Eur J Heart Fail* 2005; 7: 283-84.
- (11) Bosch X, Alfonso F, Bermejo J. Advances in the diagnosis and therapeutic evaluation of heart failure: From tonic-unloading treatment to cell transplantation and myocardial regeneration. *Rev Esp Cardiol* 2004;57(2): 161-162.
- (12) European Study Group on Diastolic Heart Failure. How to diagnose diastolic heart failure. *Eur Heart J* 1998;19: 990-1003.
- (13) Swedberg K, Cleland J, Dargie H, Drexler H, Follath F, Komajda M, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic heart failure: executive summary (update 2005): The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Chronic Heart Failure of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2005; 26(11): 115-1140.
- (14) Instituto nacional de estadística. Boletín anual de estadística. Instituto Nacional de Estadística (INE) 2009 January 1 Available from: URL: <http://www.ine.es/daco/daco42/sanitarias/ecm00.xls>
- (15) Muniz Garcia J, Castro-Beiras A. Las enfermedades cardiovasculares en España. *Cuenta y Razón* 1999;113:35-40.
- (16) Ho KK, Pinsky JL, Kannel WB, Levy D. The epidemiology of heart failure: the Framingham Study. *J Am Coll Cardiol* 1993;22(4 Suppl A): 6A-13A.

- (17) Cortina A, Reguero J, Segovia E, Rodriguez Lambert JL, Cortina R, Arias JC, et al. Prevalence of heart failure in Asturias (a region in the north of Spain). *Am J Cardiol* 2001;15;87: 1417-1419
- (18) Gillum RF. Epidemiology of heart failure in the United States. *Am Heart J* 1993;126:1042-147.
- (19) Redfield MM, Jacobsen SJ, Burnett JC, Jr., Mahoney DW, Bailey KR, Rodeheffer RJ. Burden of systolic and diastolic ventricular dysfunction in the community: appreciating the scope of the heart failure epidemic. *JAMA* 2003;289(2) : 194-202.
- (20) Ceia F, Fonseca C, Mota T, Morais H, Matias F, de SA, et al. Prevalence of chronic heart failure in Southwestern Europe: the EPICA study. *Eur J Heart Fail* 2002;4:513-519.
- (21) McMurray JJ, Stewart S. Epidemiology, aetiology, and prognosis of heart failure. *Heart* 2000;83: 596-602.
- (22) Weir RA, McMurray JJ, Velazquez EJ. Epidemiology of heart failure and left ventricular systolic dysfunction after acute myocardial infarction: prevalence, clinical characteristics, and prognostic importance. *Am J Cardiol* 2006;97(10A):13F-25F.
- (23) Vasan RS, Larson MG, Benjamin EJ, Evans JC, Levy D. Left ventricular dilatation and the risk of congestive heart failure in people without myocardial infarction. *N Engl J Med* 1997;336:1350-1355.
- (24) Fischer M, Baessler A, Hense HW, Hengstenberg C, Muscholl M, Holmer S, et al. Prevalence of left ventricular diastolic dysfunction in the community. Results from a

Doppler echocardiographic-based survey of a population sample. *Eur Heart J* 2003;24(4):320-328.

(25) Adams KF, Jr. New epidemiologic perspectives concerning mild-to-moderate heart failure. *Am J Med* 2001;110 Suppl 7A:6S-13S.

(26) Lloyd-Jones DM, Larson MG, Leip EP, Beiser A, D'Agostino RB, Kannel WB, et al. Lifetime risk for developing congestive heart failure: the Framingham Heart Study. *Circulation* 2002;106: 3143-3421.

(27) Owan TE, Hodge DO, Herges RM, Jacobsen SJ, Roger VL, Redfield MM. Trends in prevalence and outcome of heart failure with preserved ejection fraction. *N Engl J Med* 2006;355(3):308-310.

(28) Kannel WB. Incidence and epidemiology of heart failure. *Heart Fail Rev* 2000;5(2):167-173.

(29) de Giuli F, Khaw KT, Cowie MR, Sutton GC, Ferrari R, Poole-Wilson PA. Incidence and outcome of persons with a clinical diagnosis of heart failure in a general practice population of 696,884 in the United Kingdom. *Eur J Heart Fail* 2005;7(3):295-302.

(30) Levy D, Kenchaiah S, Larson MG, Benjamin EJ, Kupka MJ, Ho KK, et al. Long-term trends in the incidence of and survival with heart failure. *N Engl J Med* 2002;347:1397-1402.

(31) Roger VL, Jacobsen SJ, Weston SA, Goraya TY, Killian J, Reeder GS, et al. Trends in the incidence and survival of patients with hospitalized myocardial infarction, Olmsted County, Minnesota, 1979 to 1994. *Ann Intern Med* 2002;136: 341-348.

- (32) Kenchaiah S, Evans JC, Levy D, Wilson PW, Benjamin EJ, Larson MG, et al. Obesity and the risk of heart failure. *N Engl J Med* 2002;347(5): 305-313.
- (33) Kistorp C, Galatius S, Gustafsson F, Faber J, Corell P, Hildebrandt P. Prevalence and characteristics of diabetic patients in a chronic heart failure population. *Int J Cardiol* 2005;100(2):281-287.
- (34) Rodriguez-Artalejo F, Guallar-Castillon P, Banegas B, Jr., del Rey CJ. Trends in hospitalization and mortality for heart failure in Spain, 1980-1993. *Eur Heart J* 1997;18: 1771-1779.
- (35) Smith B. Global perspective on health service financing. *Soc Sci Med* 1985;21: 957-63.
- (36) McMurray J, McDonagh T, Morrison CE, Dargie HJ. Trends in hospitalization for heart failure in Scotland 1980-1990. *Eur Heart J* 1993;14:1158-1162.
- (37) Effects of enalapril on mortality in severe congestive heart failure. Results of the Cooperative North Scandinavian Enalapril Survival Study (CONSENSUS). The CONSENSUS Trial Study Group. *N Engl J Med* 1987;316: 1429-1435.
- (38) Effect of ramipril on mortality and morbidity of survivors of acute myocardial infarction with clinical evidence of heart failure. The Acute Infarction Ramipril Efficacy (AIRE) Study Investigators. *Lancet* 1993;342(8875): 821-828.
- (39) Ho KK, Anderson KM, Kannel WB, Grossman W, Levy D. Survival after the onset of congestive heart failure in Framingham Heart Study subjects. *Circulation* 1993;88(1):107-115.

- (40) Senni M, Tribouilloy CM, Rodeheffer RJ, Jacobsen SJ, Evans JM, Bailey KR, et al. Congestive heart failure in the community: trends in incidence and survival in a 10-year period. *Arch Intern Med* 1999;159: 29-34.
- (41) Rich MW, Brooks K, Luther P. Temporal trends in pharmacotherapy for congestive heart failure at an academic medical center: 1990-1995. *Am Heart J* 1998; 135(3): 367-372.
- (42) Hogg K, Swedberg K, McMurray J. Heart failure with preserved left ventricular systolic function; epidemiology, clinical characteristics, and prognosis. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43: 317-327.
- (43) Boulay F, Berthier F, Sisteron O, Gendreike Y, Gibelin P. Seasonal variation in chronic heart failure hospitalizations and mortality in France. *Circulation* 1999; 100: 280-286.
- (44) Levy D, Larson MG, Vasan RS, Kannel WB, Ho KK. The progression from hypertension to congestive heart failure. *JAMA* 1996;275: 1557-1562
- (45) Massie BM, Shah NB. Evolving trends in the epidemiologic factors of heart failure: rationale for preventive strategies and comprehensive disease management. *Am Heart J* 1997 ;133(6): 703-712.
- (46) Klapholz M, Maurer M, Lowe AM, Messineo F, Meisner JS, Mitchell J, et al. Hospitalization for heart failure in the presence of a normal left ventricular ejection fraction: results of the New York Heart Failure Registry. *J Am Coll Cardiol* 2004;43: 1432-1438.



- (47) Gonzalez-Juanatey JR MPVA. Insuficiencia cardíaca con función sistólica conservada (insuficiencia cardíaca diastólica). Publicación oficial de la "Sección de Insuficiencia Cardíaca, Trasplante y otras alternativas terapéuticas". Sociedad Española de Cardiología; 2004.
- (48) González-Juanatey JR et al. Estudio EPISERVE: la insuficiencia cardíaca en consultas ambulatorias. Rev Esp Cardiol. 2008;61: 611-619.
- (49) Komajda M, Follath F, Ewewdberg K et al. "The Euroheart failure survey Programme –a survey on the quality of care among patients with heart failure in Europe". The Study Group of Diagnosis of the Working Group on Heart Failure of the European Society of Cardiology, et al. Eur Heart J. 2003;24: 442-463.
- (50) Anguita Sánchez M et al. Estudio PRICE : Prevalencia de la insuficiencia cardíaca en España. Rev Esp Cardiol. 2008;61: 1041-1049.
- (51) Felker GM, Shaw LK, O'Connor CM. A standardized definition of ischemic cardiomyopathy for use in clinical research. J Am Coll Cardiol 2002;39: 1564-1565.
- (52) Opie L. Función cardíaca normal y anormal. In: Braunwald E, Zipes D, Libby P, editors. Braunwald's Cardiología. El Libro de la Medicina Cardiovascular. Madrid: MARBAN LIBROS, SL; 2004.
- (53) Hancock WO, Martyn DA, Huntsman LL. Ca<sup>2+</sup> and segment length dependence of isometric force kinetics in intact ferret cardiac muscle. Circ Res 1993;73(4): 603-611.
- (54) Lopez FA, Casado S. Heart failure, redox alterations, and endothelial dysfunction. Hypertension 2001;38(6): 1400-1405.

- (55) Krum K, PhD FRACP, Denver R, et al. Diagnostic and therapeutic potential of the endothelin system in patients with heart failure. *Heart Failure Reviews*, 2001;(6): 341-352.
- (56) Tamargo J., Caballero R., et al. Efectos del óxido nítrico sobre la función cardíaca. *Rev Esp Cardiol*. 2006; 6 (Supl A): 3-20.
- (57) Torre-Amione G, Kapadia S, Benedict C, Oral H, Young JB, Mann DL. Proinflammatory cytokine levels in patients with depressed left ventricular ejection fraction: a report from the Studies of Left Ventricular Dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 1996;27: 1201-1206.
- (58) Nambi P, Clozel M, Feuerstein G. Endothelin and heart failure. *Heart Failure Reviews*, 2001;6: 335-340.
- (59) Alonso D, Radomski MW. The nitric oxide-endothelin-1 connection. *Heart Failure Reviews*, 2003;8: 107-115.
- (60) Birks E, Yacoub MH. The role of nitric oxide and cytokines in heart failure. *Coronary Artery Dis* 1997;8: 389-402.
- (61) Levin ER, Gardner DG, Samson W. Natriuretics Peptides. *N Engl J Med* 1998; 339:(5): 32-328.
- (62) Berger R, Huelsman M, Strecker K, Et al. B-type natriuretic peptides predicts sudden death in patients with chronic heart failure. *Circulation* 2002;(105).
- (63) Osca J, Quesada A, Arnau MA, Et al. Péptido cerebral natriurético. Valor diagnóstico en la insuficiencia cardíaca. *Rev Esp Cardiol* 2002; 55: 7-15.

- (64) Pousset F, Masson F, Chavirovskaia O, et al. Plasma adrenomedullin, a new independent predictor of prognosis in patients with chronic heart failure. *Eur Heart J* 2000;21: 1009-1014.
- (65) Rivera M et al. Remodelado y activación inmunitaria en pacientes con insuficiencia cardiaca. *Rev Esp Cardiol*. 2006;59: 911-18.
- (66) Feldman AM, Combes A, Wagner D et al. The role of tumor necrosis factor in the pathophysiology of heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2000;35:537-544.
- (67) Woller KC, Drexler H. The role of interleukin-6 in the failing heart. *Heart Fail Rev* 2001;6:95-103.
- (68) Yang LL, Gros R, Kabir MG et al. Conditional cardiac overexpression of endothelin-1 induces inflammation and dilated cardiomyopathy in mice. *Circulation* 2004;109:255-261.
- (69) Murray DR, Freeman GL. Proinflammatory cytokines : predictors of a failing heart ? *Circulation* 2003;107:1460-1462.
- (70) Vasan RS, Sullivan LM , Roubenoff R et al. Inflammatory markers and risk of heart failure in elderly subjects without prior myocardial infarction : the Framingham Heart Study. *Circulation* 2003;107:1486-1491.
- (71) Wong SCY, Fukuchi M, Melnyk P et al. Induction of cyclooxygenase-2 and activation of nuclear factor-kappa-B in myocardium of patients with heart failure. *Circulation* 1998;98:100-103.
- (72) Bleumink G.S et al. Genetics polymorphisms and heart failure. *Genet Med* 2004;6:465-474.

- (73) Liew CC, Dzau VJ. Molecular genetics and genomics of heart failure. *Nature Reviews Genetics* 2004;5:811-825.
- (74) Morita H, Seidman J, Seidman CE. Genetic causes of human heart failure. *J Clin Invest* 2005;115:518-526.
- (75) Rojas Martinez A, Ortiz R, Delgado I. Genética y medicina molecular en cardiología. *Rev Esp Cardiol* 2001; 54:91-108.
- (76) Navarro-López F. Bases genéticas de la enfermedad coronaria. *Rev Esp Cardiol* 2002;55:413-431.
- (77) Wattanapitayakul SK, Mihm MJ, Young AP. Therapeutic implications of human endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism. *Trends Pharmacol Sci* 2001;22:361-368.
- (78) Colombo MG, Paradossi U, et al. Endotelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and risk of coronary artery disease. *Clinical Chemistry* 2003;49:389-395.
- (79) McNamara DM, Holubkov R, Postava L, et al. Effect of the Asp 298 Variant of endothelial nitric oxide synthase on survival for patients with congestive heart failure. *Circulation*. 2003;107:1598-1602.
- (80) Benjafield AV, Morris BJ. Association analices of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms in essential hypertension. *Am J Hypertens* 2000;13:994-998.
- (81) Rossi GP, Cesari M, Zanchetta M, Et al. The T786C endothelial nitric oxide synthase genotype is a novel risk factor for coronary artery disease in Caucasian patients of the GENICA study. *J Am Coll Cardio* 2003;41:930-937.

- (82) Casas JP, Cavalleri GL, Bautista LE, Smeeth L, Humphries SE, Hingorani AD. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and cardiovascular disease: a HuGE review. *Am J Epidemiol.* 2006; 164(10):921-935.
- (83) Tired L, Poirier O, Hallet V et al. The Lys198Asn polymorphism in the endothelin-1 gene is associated with blood pressure in overweight people. *Hypertension.* 1999;33:1169-1174.
- (84) Jin JJ, Nakura J, Wu Z, Yamamoto M et al. Association of endothelin-1 gene variant with hypertension. *Hypertension* 2003;41:163-167.
- (85) Treiber FA, Barbeau P, Harshfield G et al. Endothelin-1 gene Lys198Asn polymorphism and blood pressure reactivity. *Hypertension* 2003;42:494-499.
- (86) Dong Y, Wang X, Zhu H, Treiber FA, Sneider H. Endothelin-1 gene and progression of blood pressure and left ventricular mass. *Hypertension* 2004;44:884-890.
- (87) Ryckman K, Williams SM. Calculation and use of the Hardy-Weinberg model in association studies. *Curr Protoc Hum Genet.* 2008
- (88) Colombo MG, Ciofini E, Paradossi U, Bevilacqua S, Biagini A. ET-1 Lys198Asn and ET-A receptor H323H polymorphisms in Heart Failure. *Cardiology* 2006;105:246-252.
- (89) Sambrook. *Molecular cloning: a laboratory manual.* New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 1989.
- (90) Higuchi R, Fokler C, Dollinger G, Watson R. Kinetic PCR analysis: Real-time monitoring of DNA amplification reactions. *Bio/Technology* 1993;11:1026-1030.

- (91) Holland PM, Abramson RD, Watson R, Gelfand DH. Detection of specific polymerase chain reaction product by utilizing the 5'-3' exonuclease activity of *Thermus aquaticus* DNA polymerase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:7276-7280.
- (92) Fritsch et al. Functional characterization of cyclooxygenase-2 polymorphisms. *JPET* 2001; 299:468-476.
- (93) Kohsaka S et al. Increased risk of incident stroke associated with the cyclooxygenase-2 G-765C polymorphism in African-Americans: The Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Atherosclerosis* 2008; 196:926-930.
- (94) Lee CR, North KE et al. Cyclooxygenase polymorphisms and risk of Cardiovascular Events: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Clin Pharmacol Ther* 2008;83:52-60.
- (95) Hegener HH, Diehl KA et al. Polymorphisms of prostaglandin-endoperoxidase synthase 2 gene, and prostaglandin-E receptor 2 gene, C-reactive protein concentrations and risk of atherothrombosis: a nested case-control approach. *J Thromb Haemost* 2006; 4(8):1718-1722.
- (96) Skarke C, Schuss P et al. Pyrosequencing of polymorphisms in the COX-2 gene with reported clinical relevance. *Pharmacogenomics* 2007;8:1643-1660.
- (97) Hegedus CM, Skibola CF et al. Screening the human serum proteome for genotype-phenotype associations: an analysis of the IL6-174G>C polymorphism. *Proteomics* 2007;7:548-557.
- (98) Furumoto T, Saito N, Dong J, Mikami T, Fujii S, Kitabatake A. Association of cardiovascular risk factors and endothelial dysfunction in Japanese hypertensive patients: implications for early atherosclerosis. *Hypertens Res* 2002;25:475-480.

- (99) Chapman CM, Beilby JP, Humphries SE, Palmer LJ, Thompson PL, Hung J. Association of an allelic variant of interleukin-6 with subclinical carotid atherosclerosis in an Australian community population. *Eur Heart J* 2003;24:1494-1499.
- (100) Humphries SE, Luong LA, Ogg MS, Hawe E, Miller GJ. The interleukin-6 -174 G/C promoter polymorphism is associated with risk of coronary heart disease and systolic blood pressure in healthy men. *Eur Heart J* 2001;22:2243-2252.
- (101) Lieb W, Pavlik R, Erdmann J, Mayer B, Holmer SR, Fischer M et al. No association of interleukin-6 gene polymorphism (-174 G/C) with myocardial infarction or traditional cardiovascular risk factors. *Int J Cardiol* 2004;97:205-212.
- (102) Opdal SH and Rognum TO. The IL6 -174G>C polymorphism and sudden infant death syndrome. *Human Immunology* 2007;68:541-543.
- (103) Patel R, Lim DS et al. Variants of trophic factors and expression of cardiac hypertrophy in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J Moll Cell Cardiol* 2000;32:2369-2377.
- (104) Psychari S, Apostolou T et al. Relation of elevated C-reactive protein and interleukin-6 levels to left atrial size and duration of episodes in patients with atrial fibrillation. *Am J Cardiol*. 2005;95:764-767.
- (105) Gaudino M et al. The -174G/C Interleukin-6 Polymorphism Influences Postoperative Interleukin-6 Levels and Postoperative Atrial Fibrillation. *Circulation* 2003;108 (Suppl):II-195-II-199.

## **ANEXO I: Genotipos y características clínicas\***

**\***

**COX2: 0= CC; 1= CT; 2= TT; IL6: 0= GG; 1= GC; 2= CC; ET-1: 0= GG; 1= GT; 2= TT;**

**NOS3: 0= GG; 1= GT; 2= TT ; EDAD 65: 0= < 65 años; SEXO: 0= Varón; FE 50%(Fracción de**

**eyección 50%): 0= < 50%; C.ISQUÉMICA (Cardiopatía isquémica), DM (Diabetes mellitus), HTA**

**(Hipertensión arterial), FA (Fibrilación auricular), VI DILATADO (Ventrículo izquierdo dilatado),**

**VALVULOPATÍA Y EPOC: 0= NO; ## datos perdidos**



muestra	C0X2	IL6	EDN1	NOS3	edad65	edad	SEXO	C. ISQUEMICA	DM	HTA	FE	FE 50%	Vldilatado	fc	FA	CLASE NYHA	valvulopatía	EPOC
13.587	0	1	0	1	0	61	1		0	0	0	20	0	1	50	0	1	0
14.429	0	1	0	0	1	77	1		1	1	1	32	0	1	55	0	3	0
12.847	1	1	0	0	1	69	1		0	0	0	69	1	0	55	1	3	0
12.757	1	0	1	1	1	80	0		1	0	0	29	0	1	55	1	3	0
14.430	0	0	0	0	1	65	0		0	1	0	30	0	1	56	0	3	0
12.249	1	0	0	0	1	88	1		1	0	0	37	0	1	60	0	3	0
14.206	1	0	0	0	1	79	1		0	1	0	25	0	1	60	1	3	0
13.659	1	1	0	0	1	73	0		1	1	1	30	0	1	60	1	2	0
14.095	2	1	0	0	1	67	0		1	0	0	22	0	1	60	0	2	1
12.656	0	2	0	0	1	65	0		1	1	1	60	1	1	60	0	2	0
13.348	0	0	1	0	1	79	0		1	0	1	35	0	1	60	1	3	0
12.657	1	0	0	1	1	76	1		0	0	1	30	0	1	60	1	3	0
14.208	0	1	0	1	1	71	1		0	0	1	72	1	0	60	1	2	0
13.065	1	0	1	1	1	73	0		0	0	1	35	0	1	60	0	2	0
13.284	0	1	1	1	1	74	1		0	0	0	69	1	0	60	1	2	0
12.263	2	1	1	1	1	83	0		1	1	1	40	0	1	60	0	3	0
13.713	0	0	0	2	1	83	1		1	0	1	50	1	0	60	0	2	0
14.431	2	0	1	0	1	71	0		0	0	0	34	0	1	65	1	2	0
15.456	1	1	1	1	1	80	1		0	1	1	50	1	0	65	1	2	1
15.752	0	0	0	0	0	55	0		0	1	0	14	0	1	70	0	3	1
13.902	0	1	1	0	1	83	0		0	0	1	40	0	1	70	1	2	0
13.287	0	0	0	1	0	63	0		0	0	1	35	0	1	70	1	2	0
16.428	0	0	1	1	1	72	0		0	1	1	30	0	1	70	1	3	1
13.662	0	2	1	1	1	68	1		0	0	1	49	0	1	70	1	2	0
16.867	1	0	0	2	1	73	0		1	0	1	65	1	0	70	1	2	1
13.591	1	1	0	2	1	75	1		1	0	1	31	0	1	70	0	1	####
14.614	1	1	0	2	1	70	0		0	0	1	58	1	0	70	1	1	0
16.780	1	1	2	2	1	73	0		1	1	0	18	0	1	70	1	3	0
16.829	0	1	1	2	1	78	1		1	1	1	76	1	0	74	1	2	0
13.346	1	1	0	0	1	85	0		0	0	1	35	0	1	75	1	3	0
12.548	0	1	0	2	1	85	0		0	1	1	53	1	0	80	1	3	0
12.846	0	0	0	0	1	68	0		0	1	0	55	1	0	90	1	2	1
12.802	1	0	0	0	1	83	1		0	0	0	50	1	0	90	1	2	0
12.850	2	0	0	0	1	68	0		0	1	1	76	1	0	90	1	2	1
16.568	0	1	0	0	1	86	1		0	0	1	79	1	0	90	0	3	0
12.600	1	1	0	0	1	83	0		0	0	0	51	1	0	90	1	2	0
16.019	0	1	2	0	1	68	1		0	0	0	30	0	1	90	0	2	0
15.455	1	0	0	1	0	60	0		1	0	0	35	0	1	90	0	2	1
15.597	0	0	0	2	0	48	0		0	1	0	35	0	1	90	0	3	0



12.978	2	2	0	2	1	85	1	1	1	1	62	1	0	70	1	3	1	0
13.347	1	0	1	1	1	82	0	1	1	1	57	1	0	70	0	2	0	0
17.015	2	1	1	0	1	87	0	1	0	1	50	1	0	80	1	2	1	0
14.039	0	0	1	2	0	64	1	0	0	0	55	1	0	60	1	2	1	1
16.871	2	0	0	1	0	60	0	1	1	1	20	0	1	68	0	2	0	0
16.912	0	0	0	2	1	81	0	1	1	1	50	1	0	90	0	3	1	0
17.018	2	0	0	0	1	80	0	0	1	1	55	1	1	50	0	2	1	0
16.907	0	0	0	1	0	58	1	1	0	1	40	0	0	80	0	2	1	0
16.827	0	0	0	2	1	93	1	1	1	1	50	1	0	75	0	2	0	1
16.781	2	1	0	1	1	74	1	0	0	1	55	1	0	90	1	3	1	0
12.708	1	1	0	0	1	87	1	1	1	1	36	0	0	90	0	2	0	0
16.408	0	0	1	1	1	72	1	0	0	1	50	1	0	60	##	2	1	0
13.753	0	0	0	1	1	73	0	1	0	0	27	0	1	70	1	3	0	1
13.586	0	1	0	2	1	81	1	0	1	0	50	1	1	70	1	2	1	0
16.449	1	0	0	1	1	85	1	1	0	1	80	1	0	70	1	2	1	0
13.680	0	1	0	0	1	65	0	0	0	0	57	1	1	55	0	1	0	0
16.565	1	1	0	1	1	75	0	1	1	0	26	0	1	90	1	3	1	0
12.853	0	0	1	0	1	78	1	0	1	1	50	1	0	70	1	3	0	0
17.016	1	0	0	0	1	75	1	0	1	1	45	0	0	90	1	3	1	0
15.337	0	0	1	0	1	73	0	1	0	0	30	0	1	90	1	2	0	0
15.454	1	1	0	0	1	74	0	1	0	1	36	0	1	50	1	2	1	1
12.658	1	0	0	0	1	67	1	0	1	1	50	1	0	80	0	3	1	1
14.480	1	2	0	1	0	55	0	0	0	0	50	1	0	60	1	2	1	0
13.485	0	1	1	0	1	84	1	0	1	1	35	0	1	78	1	3	0	0
12.799	0	0	0	0	1	82	1	0	0	1	84	1	0	70	1	2	1	0
17.017	1	0	2	1	1	78	1	0	0	0	50	1	0	70	1	2	1	0
12.804	0	2	0	0	1	72	0	1	0	0	30	0	1	80	0	3	0	1
16.828	0	0	0	0	1	72	1	0	0	0	50	1	0	80	1	3	1	0
12.602	0	1	0	1	1	77	0	0	1	1	45	0	0	90	1	2	1	0
13.349	1	1	0	0	1	81	1	0	0	0	57	1	0	60	1	2	1	0
12.848	0	1	1	0	1	82	1	0	1	1	67	1	1	90	1	2	1	0
13.683	1	0	0	0	1	68	0	1	0	1	29	0	1	60	1	3	1	0
16.908	0	2	0	0	1	78	1	0	0	1	50	1	1	60	1	2	1	0
15.751	0	1	0	1	1	80	0	0	1	1	55	1	0	70	1	2	1	0
16.885	1	0	0	1	1	83	1	1	0	1	50	1	0	75	0	2	1	0
17.019	1	1	0	1	0	60	0	1	0	0	59	1	0	70	0	2	1	1
16.642	1	2	0	1	1	84	0	1	1	1	35	0	0	70	1	3	0	1
16.427	1	1	1	0	1	76	0	1	1	1	50	1	1	75	1	2	0	1
12.851	0	2	2	0	1	82	0	1	0	0	35	0	1	80	1	2	1	1
15.831	1	1	0	1	1	85	0	1	1	1	35	0	1	75	1	2	0	0



13.486	0	1	0	0	0	55	0	1	0	1	53	1	0	90	0	4	0	1
16.564	0	2	0	1	1	68	0	1	1	1	36	0	1	87	0	3	0	0
12.976	0	1	0	1	1	91	1	0	0	1	73	1	0	90	0	2	0	0
13.183	1	1	0	1	1	76	1	0	0	1	67	1	0	50	1	2	1	0
15.830	0	0	0	1	1	75	0	1	0	1	70	1	0	65	1	2	1	0
13.751	0	1	0	1	1	88	0	0	1	1	39	0	0	90	1	2	0	0
16.702	0	2	0	1	1	86	1	0	1	1	50	1	0	75	1	2	1	0
12.974	1	0	0	1	0	57	0	0	0	0	27	0	1	75	0	2	0	0
13.983	1	1	1	1	1	65	1	1	1	1	35	0	1	55	1	2	1	0
12.260	1	2	0	1	1	85	1	0	1	0	78	1	0	70	1	3	1	0
16.701	1	1	0	0	1	76	0	1	1	0	40	0	1	55	1	2	1	0
13.289	1	0	0	0	0	63	1	1	1	1	57	1	0	70	0	2	0	0
13.069	1	2	0	1	1	79	0	0	0	1	17	0	1	90	0	2	0	1
13.699	1	0	0	0	1	69	1	1	0	1	23	0	1	53	0	2	1	0
12.546	2	1	0	1	1	79	1	1	0	1	72	1	0	60	1	3	1	0
16.869	1	1	1	0	1	77	1	1	0	0	30	0	1	70	0	2	1	0
13.188	0	0	0	0	1	76	0	1	1	1	30	0	1	85	0	3	0	0
13.681	1	1	1	1	1	80	0	0	0	1	51	1	0	60	0	2	1	1
17.035	0	0	1	2	1	79	0	0	1	1	72	1	1	60	1	3	1	0
12.262	1	0	1	1	1	76	1	0	0	1	62	1	0	80	1	2	1	0
12.758	0	1	1	0	1	79	1	1	0	1	51	1	1	90	1	3	1	0
12.707	1	1	0	1	1	76	0	0	0	0	45	0	1	68	1	3	1	0
16.504	0	0	1	0	1	81	0	0	0	1	30	0	1	70	0	3	0	1
16.020	0	0	1	0	0	64	0	1	1	0	29	0	1	75	0	3	0	0
16.503	1	1	0	2	1	66	0	1	1	1	55	1	0	75	0	2	1	0
15.598	0	1	0	2	1	83	1	1	0	1	50	1	0	80	0	2	0	0
12.547	1	1	0	2	1	82	1	1	0	1	57	1	0	80	1	3	1	0
16.023	1	0	0	1	0	64	0	0	0	0	35	0	1	90	1	2	1	1
13.484	0	1	2	2	1	79	1	0	0	1	61	1	0	90	1	2	1	0
13.288	1	0	0	1	1	73	0	0	0	1	47	0	1	50	1	2	1	1
16.879	1	0	0	2	1	70	1	0	0	1	70	1	0	50	1	2	1	0
13.286	1	0	0	1	1	74	1	0	0	0	55	1	0	70	0	3	1	0
13.876	1	1	0	0	1	84	1	0	0	1	35	0	1	80	0	2	0	0
15.768	2	2	0	0	1	72	1	0	1	1	65	1	0	70	1	2	0	0
12.753	1	0	0	2	1	78	0	1	0	1	25	0	1	70	1	4	0	1
12.545	1	1	1	1	1	84	0	1	0	0	45	0	0	75	0	2	0	0
12.711	0	0	0	2	1	75	0	1	0	1	35	0	1	75	0	2	0	0
14.481	1	1	0	0	0	50	0	1	1	1	30	0	0	80	0	2	0	0
12.265	2	0	0	1	1	73	0	1	0	1	40	0	0	60	1	2	0	0
13.661	0	0	0	0	1	79	1	1	0	1	60	1	0	70	1	2	0	0



16.660	0	1	0	0	1	70	0	1	0	0	25	0	1	70	0	3	1	0
13.186	0	0	1	0	0	51	0	0	0	1	37	0	1	75	1	2	0	0
12.601	1	0	0	0	1	85	1	1	0	1	35	0	1	80	1	2	1	0
13.658	0	0	1	2	1	84	0	1	0	0	34	0	1	60	0	2	0	0
17.002	1	0	0	0	1	84	0	1	0	1	50	1	0	80	1	2	0	0
13.752	1	1	0	2	1	84	0	1	0	0	35	0	1	60	0	2	0	0
16.824	1	1	0	1	0	61	1	0	0	0	30	0	0	90	0	3	1	0
13.663	1	0	0	0	1	81	1	0	0	1	34	0	1	70	0	2	0	0
14.041	1	2	0	0	1	75	1	0	0	1	53	1	0	72	1	2	1	0
12.800	0	1	0	1	1	84	1	0	0	1	60	1	0	74	1	2	0	0
13.750	2	0	0	1	1	88	1	0	0	1	69	1	0	80	0	2	0	0
15.596	2	1	0	1	1	67	0	0	0	1	20	0	1	##	0	2	1	0
15.339	2	2	0	1	1	70	1	0	1	1	54	1	0	60	0	2	0	0
12.798	2	1	1	2	1	77	0	0	0	0	25	0	1	60	1	2	1	0
13.701	1	0	1	0	1	73	1	0	0	0	47	0	1	70	1	2	0	0
16.661	0	1	1	0	1	78	0	1	0	0	50	1	0	70	1	2	0	1
12.544	1	1	0	2	1	89	0	1	0	1	50	1	0	70	1	3	0	0
12.754	0	0	0	1	0	63	0	0	0	1	35	0	1	80	1	1	0	0
13.696	0	0	0	2	1	74	0	0	0	0	45	0	1	55	0	2	0	0
16.825	0	1	0	0	0	42	0	0	0	0	40	0	1	60	1	1	1	0
12.849	1	1	1	2	1	67	0	1	1	0	63	1	1	60	1	1	1	0
13.136	1	0	1	0	1	86	0	0	0	1	60	1	0	90	1	2	0	0
12.710	0	0	1	1	1	88	0	1	1	1	27	0	1	90	1	2	1	0
13.660	0	0	0	0	1	83	1	1	0	0	67	1	0	60	0	2	0	0
13.754	0	0	0	2	1	65	0	0	0	0	12	0	1	60	0	1	0	0
13.588	1	0	0	0	1	83	0	1	1	1	65	1	0	80	0	2	1	0
16.868	1	0	2	0	1	66	0	0	0	0	36	0	1	80	1	1	0	0
16.910	0	0	1	0	0	50	0	1	0	1	60	1	0	88	0	1	0	0
16.643	0	0	2	1	1	68	0	1	0	0	30	0	1	45	0	2	0	0
13.697	1	0	0	1	1	72	1	1	1	1	35	0	1	80	0	2	0	0
12.659	1	1	0	1	1	71	1	0	1	1	40	0	0	70	1	2	1	0
12.803	1	0	2	1	1	77	1	0	0	1	70	1	0	75	0	2	0	0
12.845	1	1	2	0	1	82	1	1	0	0	37	0	1	80	1	3	0	1
13.070	0	0	0	1	1	72	0	0	1	1	30	0	1	80	1	2	0	0
12.797	2	0	1	1	1	75	1	0	0	1	36	0	1	90	0	2	1	0
13.184	1	1	2	1	1	73	0	0	1	0	35	0	1	##	1	2	0	0
13.703	0	1	1	1	1	75	0	1	0	1	66	1	1	50	1	3	1	0
13.748	1	1	0	1	1	80	1	1	0	1	50	1	0	70	1	2	1	0
12.264	0	0	0	0	1	65	0	0	0	0	55	1	0	90	1	1	0	0
12.805	1	1	0	1	1	81	1	0	1	0	60	1	0	80	1	2	0	1